



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 199 60 204.2

Anmeldetag: 14. Dezember 1999

Anmelder/Inhaber: Aventis Pharma Deutschland GmbH,
Frankfurt am Main/DE

Bezeichnung: Substituierte Norbornylamino-Derivate, Verfahren zu
ihrer Herstellung, ihre Verwendung als Medikament
oder Diagnostikum sowie sie enthaltendes Medika-
ment

IPC: C 07 C, A 01 N, A 61 K

Bemerkung: Die Anmelderin firmierte bei Einreichung dieser
Patentanmeldung unter der Bezeichnung:
Hoechst Marion Roussel Deutschland GmbH

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

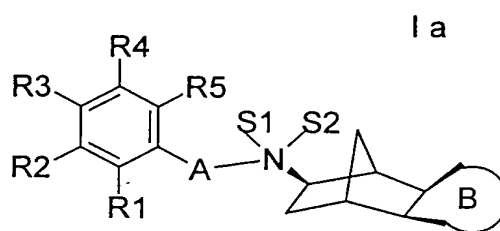
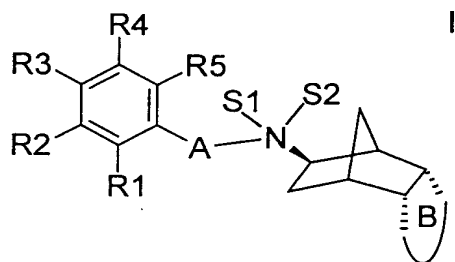
München, den 31. August 2000
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Agurks

Beschreibung

- 5 Substituierte Norbornylamino-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung, ihre Verwendung als Medikament oder Diagnostikum sowie sie enthaltendes Medikament

- 10 Die Erfindung betrifft substituierte Norbornylamino-Derivate mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anelliertem Fünfring der Formel I a,



- 15 worin bedeuten:

A (C₁-C₄)- Alkylen;

S1 ein freies Elektronenpaar oder (C₁-C₄)- Alkyl;

S2 (C₁-C₄)- Alkyl oder H;

wobei, wenn S1 und S2 Alkyl bedeuten, X⁻ in der resultierenden Gruppierung [-N⁺(S1S2)- X⁻] einem physiologisch akzeptablem Anion oder Trifluoracetat entspricht;

B ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenstoff-Fünfring, der mit Oxo, Hydroxy, (C₁-C₄)- Alkoxy und (C₁-C₄)- Alkyl einfach oder mehrfach unabhängig voneinander substituiert sein kann;

- 25 und

R1, R2, R3, R4 und R5

unabhängig voneinander H, OH, F, Cl, Br, I, CN, NO₂; Amidino, -CO₂R(11), -CONR(11)R(12), -SO_rR(11), -SO_sNR(11)R(12), (C₁-C₄)- Alkyl, (C₁-C₄)-

Alkoxy, (C₁-C₄)-Alkoxy-(C₁-C₄)- alkyl, (C₁-C₄)-Alkoxy-(C₁-C₄)-alkyloxy,
Hydroxy-(C₁-C₄)- alkyl, (C₃-C₇)- Cycloalkoxy oder Phenyloxy,

wobei Phenyl unsubstituiert ist oder substituiert mit bis zu drei
Substituenten, die unabhängig voneinander sind, ausgewählt aus
der Gruppe bestehend aus F, Cl, Br und Methoxy;

Amino, (C₁-C₄)- Alkylamino, Di-(C₁-C₄)- alkylamino, Amino-(C₁-C₄)- alkyl, Di-
(C₁-C₄)- alkylamino-(C₁-C₄)- alkyl, (C₁-C₄)-Alkylamino-(C₁-C₄)- alkyl,
wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder teilweise durch
Fluor substituiert sein können;

R11 und R12

unabhängig voneinander H oder (C₁-C₄)- Alkyl,
wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder
teilweise durch Fluor substituiert sein können;

r 0, 1 oder 2;

s 1 oder 2;

oder

R1 und R2, R2 und R3, R3 und R4 oder R4 und R5

jeweils gemeinsam eine Gruppe -O-(CH₂)_n-O-;

n 1 oder 2;

und

die jeweils verbleibenden Reste R1, R2, R3, R4 oder R5

unabhängig voneinander H, OH, F, Cl, Br, I, CN, NO₂, Amidino, -CO₂R(11), -
CONR(11)R(12), -SO_rR(11), -SO_sNR(11)R(12), (C₁-C₄)-Alkyl, (C₁-C₄)-Alkoxy,
(C₁-C₄)-Alkoxy-(C₁-C₄)-alkyl, (C₃-C₇)- Cycloalkoxy, Hydroxy-(C₁-C₄)-alkyl,
Amino, (C₁-C₄)- Alkylamino, Di-(C₁-C₄)- alkylamino, Amino-(C₁-C₄)- alkyl, Di-
(C₁-C₄)-alkylamino-(C₁-C₄)- alkyl, (C₁-C₄)-Alkylamino-(C₁-C₄)- alkyl,

wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder teilweise
durch Fluor substituiert sein können;

R11 und R12

unabhängig voneinander H oder (C₁-C₄)- Alkyl,

wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder
teilweise durch Fluor substituiert sein können;

r 0, 1 oder 2;

s 1 oder 2;

wobei Benzyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin ausgenommen ist,
sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

- 5 Bevorzugt sind Verbindungen mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anelliertem Fünfring der Formel I a, in der bedeuten:

A (C₁-C₂)- Alkylen

S1 freies Elektronenpaar oder Methyl,

10 S2 H;

B ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenstoff-Fünfring;

R1, R2, R3, R4 und R5

unabhängig voneinander H, Amino, Hydroxymethyl, OH, Methoxy, F, Cl, Br oder Iod;

15 oder

R2 und R3

gemeinsam -O-CH₂-O-;

und

die verbleibenden Reste R1, R4 und R5

20 unabhängig voneinander H, OH, F, Cl, Br, I, CN, NO₂, (C₁-C₂)- Alkoxy, Amino, (C₁-C₂)-Alkylamino oder Di-(C₁-C₂)-alkylamino,

wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können;

25 wobei Benzyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin ausgenommen ist,
sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

Besonders bevorzugt sind Verbindungen mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anelliertem Fünfring der Formel I a, in der bedeuten:

30 A (C₁-C₂)-Alkylen;

S1 freies Elektronenpaar;

S2 H;

B ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenstoff-Fünfring;

R1, R3 und R5

Wasserstoff;

und R2 und R4

unabhängig voneinander H, Methoxy, F oder Cl;

5 oder

R2 und R3

gemeinsam -O-CH₂-O-;

und

R1, R4 und R5

10 Wasserstoff;

wobei Benzyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin ausgenommen ist,
sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

Ganz besonders bevorzugt sind die folgenden Verbindungen, mit exo-konfiguriertem
15 Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem
Stickstoff und exo-anelliertem Fünfring der Formel I a :

exo/endo-(3-Chlor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin;

exo/endo-Benzo[1,3]dioxol-5-ylmethyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

20 exo/endo-(rac)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(+)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(-)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-[1-(3-Methoxy-phenyl)-ethyl]-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-

25 amin,

exo/endo-(3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-(3-methoxy-
benzyl)-amin,

exo/endo-(3,5-Difluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin und

exo/exo-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin

30 sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

Außerordentlich besonders bevorzugt sind die folgenden Verbindungen, mit exo-
konfiguriertem Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I:

exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(3-Fluor--benzyl)-(3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-Benzo[1,3]dioxol-5-ylmethyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(*rac*)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

5 exo/endo-(+)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(-)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin, und

exo/endo-3,5-Difluor--benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

10 Als Säureadditionssalze kommen dabei Salze aller pharmakologisch verträglichen Säuren in Frage, beispielsweise Halogenide, insbesondere Hydrochloride, Lactate, Sulfate, Citrate, Tartrate, Acetate, Phosphate, Methylsulfonate, p-Toluolsulfonate, Adipinate, Fumarate, Gluconate, Glutamate, Glycerolphosphate, Maleinate und Pamoate. Diese Gruppe entspricht auch den physiologisch akzeptablen Anionen.

15

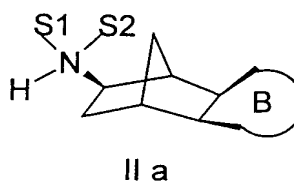
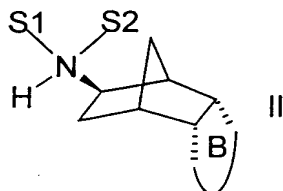
Enthält die Verbindung der Formel I oder I a ein oder mehrere Asymmetriezentren, so können diese sowohl S- als auch R-konfiguriert sein. Die Verbindungen können als optische Isomere, Diastereomere, Racemate oder Gemische derselben vorliegen. Allerdings muß der Aminosubstituent exo-ständig und der Ring endo-beziehungsweise exo-anelliert sein.

20

Die genannten Alkyl- oder Alkylen-Reste können sowohl geradkettig als auch verzweigt vorliegen.

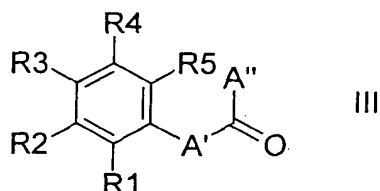
25 Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der Formel I oder I a, dadurch gekennzeichnet, daß man

a) eine Verbindung der Formel II oder II a



mit einer Verbindung der Formel III in Gegenwart geeigneter Reduktionsmittel und möglicherweise auch Lewis-Säuren direkt zu Verbindungen der Formel I oder I a umgesetzt,

5

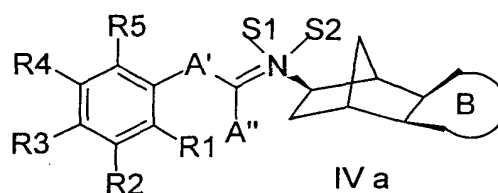
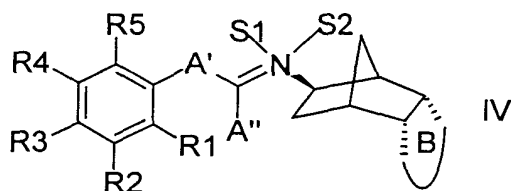


worin S1, S2, B, R1, R2, R3, R4 und R5 die oben angegebene Bedeutung besitzen, während unabhängig voneinander A' einer Bindung oder (C₁-C₃)-Alkyl und A'' H oder (C₁-C₃)-Alkyl entspricht und A' und A'' zusammen mit dem Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe sowie Kohlenstoffatome repräsentieren wie das oben beschriebene A;

oder

b) das aus Verbindungen der Formeln II oder II a und III gebildete Intermediat der Formel IV oder IV a

15

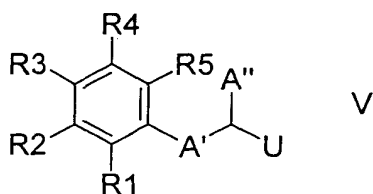


isoliert und dann mit geeigneten Reduktionsmitteln in die Verbindungen der Formel I oder I a überführt,

oder

c) eine Verbindung der Formel II oder II a mit einem Alkylierungsmittel der Formel V,

20

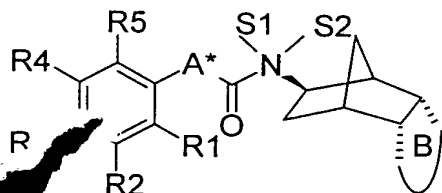


in der U für eine nukleophil substituierbare Gruppe steht - wie z. B. Halogen, Rest eines reaktionsfähigen Esters, quartäre Ammonium Salze - und die anderen Reste wie oben beschrieben definiert sind, aber hier dem Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe das Kohlenstoffatom, an das U gebunden ist, entspricht,

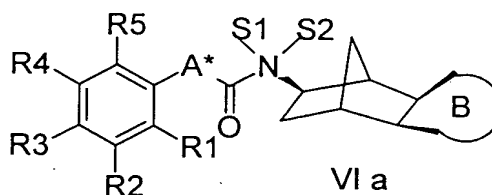
umsetzt,

oder

d) Carbonsäureamide der Formel VI oder VI a



VI



VI a

worin A* einer Bindung oder (C₁-C₃)-Alkyl entspricht und die anderen Reste, wie oben beschrieben, definiert sind,

zu den entsprechenden Aminen reduziert;

oder

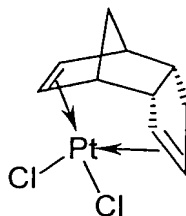
e) Verbindungen der Formel I oder I a, in denen S1 einem freien Elektronenpaar und S2 Wasserstoff entspricht, mit Alkylierungsmitteln der Formel VII,



worin S* (C₁-C₄)- Alkyl bedeutet und U oben beschriebene Bedeutung besitzt, mono- oder dialkyliert, so daß aus dieser Umsetzung tertiäre Amine oder quartäre Ammoniumsalze hervorgehen;

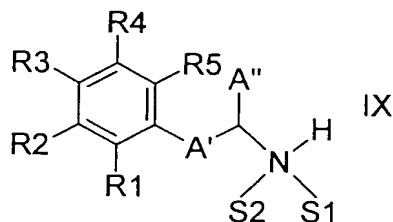
oder

f) einen Dicyclopentadienylplatin-Komplex der Formel VIII



VIII

mit Aminen vom Typ der Formel IX,



5 worin S1, S2, R1, R2, R3, R4 und R5 die oben angegebene Bedeutung besitzen, während unabhängig voneinander A' einer Bindung oder (C₁-C₃)-Alkyl und A'' H oder (C₁-C₃)-Alkyl entspricht und A' und A'' zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das das Stickstoffatom gebunden ist, so viele Kohlenstoffatome repräsentieren wie das oben beschriebene A,

10 zu Verbindungen der Formel I umsetzt und anschließend das gebildete Zwischenprodukt reduziert (J. K. Stille, D. B. Fox JACS 1970 (92), 1274)., und dass man gegebenenfalls in das pharmazeutisch verträgliche Salz überführt.

15 Die US- Patentschrift 4 024 274 (Hoe 74/F018) beschreibt Norbornylamine ähnlichen Strukturtyps, aber unbekannter räumlicher Struktur mit guter diuretischer und saluretischer Wirksamkeit.

20 Im Screening fielen aus der Vielzahl der dortigen Patentbeispiele einige Verbindungen dieses Strukturtyps überraschend als potente Inhibitoren des Natrium-Protonen-Austauschers, Subtyp 3 (NHE3), auf. Die potenteste Verbindung wurde daraufhin auf ihre salidiuretische Wirksamkeit untersucht und überraschenderweise konnte keine salidiuretische Wirkung nachgewiesen werden, so daß ein Zusammenhang zwischen NHE3-Aktivität und Salidiurese nicht aufgezeigt werden konnte.

25 Da die räumliche Struktur des Tricyclus nicht bekannt war, bestand die Wahl zwischen vier möglichen Enantiomerenpaaren, also insgesamt acht räumlich verschiedenen Strukturen. Bei diesen Enantiomerenpaaren zeigte sich, daß nur zwei Paare eine potente NHE3-inhibierende Wirkung aufweisen, während die beiden
30 anderen Enantiomerenpaare kaum NHE3-blockierende Eigenschaften zeigen. Die Aufklärung der aktivsten Struktur durch Röntgenstrukturanalyse offenbarte, daß es

sich bei dem am stärksten NHE3-aktiven Enantiomerenpaar um Verbindungen mit definierter exo-Konfiguration für den Stickstoff sowie definiert endo-anelliertem Fünfring handelt. Das etwas weniger aktive Enantiomerenpaar besitzt die definierte exo-Konfiguration für den Stickstoff sowie einen definiert exo-anellierten Fünfring.

- 5 Die beiden verbliebenen Enantiomerenpaare mit definierter endo/exo-beziehungsweise endo/endo-Konfiguration zeigen kaum NHE3-inhibierende Wirkung Aktivität.

- 10 Überraschend war weiterhin, daß die definierten getrennten Enantiomere einer der Beispiolverbindungen, die die definierte exo-Konfiguration für den Stickstoff sowie den definiert endo-anellierten Fünfring aufweisen, beide ähnlich aktiv am NHE3 sind. Aufgrund ihrer spiegelbildlichen räumlichen Anordnung war hier ein deutlicher Aktivitätsunterschied zu erwarten.

- 15 Gegenüber den bekannten Inhibitoren des Natrium-Protonen-Austauschers, Subtyp 3 nach EP-OS 825 178 (HOE 96/F226), die relativ polare Strukturen repräsentieren und dem Acylguanidintyp entsprechen (J.-R. Schwark et al. Eur. J. Physiol (1998) 436:797), handelt es sich bei den erfindungsgemäßen Verbindungen um überraschend lipophile Substanzen, die nicht vom Acylguanidintyp sind und die völlig
- 20 neuartige Strukturen für die Inhibierung des NHE3 repräsentieren. Es handelt sich unseren Recherchen zufolge nach den soeben genannten Acylguanidinen erst um die zweite Stoffklasse von NHE3-Inhibitoren, die bislang bekannt wurde. Gegenüber den obigen bekannten NHE3-Inhibitoren zeichnen sie sich durch überlegene Membrangängigkeit aus.

25

Der NHE3 wird im Körper verschiedener Spezies bevorzugt in der Galle, dem Darm und in der Niere gefunden (Larry Fliegel et al, Biochem. Cell. Biol. 76: 735 - 741, 1998), ließ sich aber auch im Gehirn nachweisen (E. Ma et al. Neuroscience 79: 591 - 603).

30

Die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I oder I a eignen sich zur Verwendung als Antihypertensiva für die Behandlung der primären und sekundären Hypertonie.

Außerdem können die Verbindungen alleine oder in Verbindung mit NHE-Inhibitoren anderer Subtypspezifität akut oder chronisch sauerstoffmangelversorgte Organe durch Verringerung oder Verhinderung ischämisch induzierter Schäden schützen.

Sie eignen sich somit als Arzneimittel z.B. für operative Eingriffe (z.B. bei Organ-

- 5 Transplantationen von Niere und Leber, wobei die Verbindungen sowohl für den Schutz der Organe im Spender vor und während der Entnahme, zum Schutz entnommener Organe beispielsweise bei Behandlung mit oder deren Lagerung in physiologischen Badflüssigkeiten, wie auch bei der Überführung in den Empfängerorganismus verwendet werden können) oder akutes und chronisches
- 10 Nierenversagen. Besonders vorteilhaft lassen sich ischämisch induzierte Schäden am Darm vermeiden.

- Entsprechend ihrer protektiven Wirkung gegen ischämisch induzierte Schäden sind die Verbindungen potenziell auch als Arzneimittel zur Behandlung von Ischämien
- 15 des Nervensystems, insbesondere des ZNS, geeignet, wobei sie z. B. zur Behandlung des Schlaganfalls oder des Hirnödems geeignet sind. Darüber hinaus eignen sich die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I oder I a ebenfalls zur Behandlung von Formen des Schocks, wie beispielweise des allergischen, cardiogenen, hypovolämischen und des bakteriellen Schocks.

20

Weiterhin induzieren die Verbindungen eine Verbesserung des Atemantriebes und werden deshalb zur Behandlung von Atmungszuständen bei folgenden klinischen Zuständen und Krankheiten herangezogen: Gestörter zentraler Atemantrieb (z. B. zentrale Schlafapnoen, plötzlicher Kindstod, postoperative Hypoxie), muskulär-

25 bedingte Atemstörungen, Atemstörungen nach Langzeitbeatmung, Atemstörungen bei Adaptation im Hochgebirge, obstruktive und gemischte Form der Schlafapnoen, akute und chronische Lungenkrankheiten mit Hypoxie und Hyperkapnie.

- Eine Kombination eines NHE-Inhibitors mit einem Carboanhydrase-Hemmer (z. B. Acetazolamid), wobei letzterer eine metabolische Azidose herbeiführt und dadurch
- 30 bereits die Atmungstätigkeit steigert, erweist sich als vorteilhaft durch verstärkte Wirkung und verminderten Wirkstoffeinsatz.

Es hat sich gezeigt, daß die erfindungsgemäßen Verbindungen eine milde abführende Wirkung besitzen und demzufolge vorteilhaft als Abführmittel oder bei drohender Darmverstopfung verwendet werden können, wobei die Verhinderung der mit Verstopfungen im Darmbereich einhergehenden ischämischen Schäden

5 besonders vorteilhaft ist.

Weiterhin besteht die Möglichkeit der Gallenstein-Bildung vorzubeugen.

10 Darüberhinaus können die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I oder I a eine inhibierende Wirkung auf die Proliferationen von Zellen, beispielsweise der Fibroblasten-Zellproliferation und der Proliferation der glatten Gefäßmuskelzellen ausüben. Deshalb kommen die Verbindungen der Formel I oder I a als wertvolle

Therapeutika für Krankheiten in Frage, bei denen die Zellproliferation eine primäre oder sekundäre Ursache darstellt, und können deshalb als Antiatherosklerotika,

15 Mittel gegen diabetische Spätkomplikationen, Krebserkrankungen, fibrotische Erkrankungen wie Lungenfibrose, Leberfibrose oder Nierenfibrose, endotheliale Dysfunktion, Organhypertrophien und -hyperplasien, insbesondere bei Prostatahyperplasie bzw. Prostatahypertrophie verwendet werden.

20 Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind wirkungsvolle Inhibitoren des zellulären Natrium-Protonen-Antiporters der bei zahlreichen Erkrankungen (essentielle Hypertonie, Atherosklerose, Diabetes usw.) auch in solchen Zellen erhöht ist, die Messungen leicht zugänglich sind, wie beispielsweise in Erythrocyten,

Thrombocyten oder Leukozyten. Die erfindungsgemäßen Verbindungen eignen sich 25 deshalb als hervorragende und einfache wissenschaftliche Werkzeuge,

beispielsweise in ihrer Verwendung als Diagnostika zur Bestimmung und Unterscheidung bestimmter Formen der Hypertonie, aber auch der Atherosklerose, des Diabetes, proliferativer Erkrankungen usw. Darüber hinaus sind die Verbindungen der Formel I oder I a für die präventive Therapie zur Verhinderung der 30 Genese des Bluthochdrucks, beispielweise der essentiellen Hypertonie, geeignet.

Es wurde außerdem gefunden, daß NHE-Inhibitoren eine günstige Beeinflussung der Serumlipoproteine zeigen. Es ist allgemein anerkannt, daß für die Entstehung arteriosklerotischer Gefäßveränderungen, insbesondere der koronaren

Herzkrankheit, zu hohe Blutfettwerte, sogenannte Hyperlipoproteinämien, einen wesentlichen Risikofaktor darstellen. Für die Prophylaxe und die Regression von atherosklerotischen Veränderungen kommt daher der Senkung erhöhter Serum-Lipoproteine eine außerordentliche Bedeutung zu. Die erfindungsgemäßen

- 5 Verbindungen können daher zur Prophylaxe und zur Regression von atherosklerotischen Veränderungen herangezogen werden, indem sie einen kausalen Risikofaktor ausschalten. Mit diesem Schutz der Gefäße gegen das Syndrom der endothelialen Dysfunktion sind Verbindungen der Formel I oder I a wertvolle Arzneimittel zur Prävention und zur Behandlung koronarer Gefäßspasmen, 10 der Atherogenese und der Atherosklerose, der linksventrikulären Hypertrophie und der dilatierten Kardiomyopathie, und thrombotischer Erkrankungen.

- Die genannten Verbindungen finden deshalb vorteilhaft Verwendung zur Herstellung eines Medikaments zur Prävention und Behandlung von Schlafapnoen und muskulär 15 bedingter Atemstörungen; zur Herstellung eines Medikaments zur Blutdrucksenkung, zur Herstellung eines Medikaments mit abführender Wirkung zur Prävention und Behandlung intestinaler Verstopfungen; zur Herstellung eines Medikaments zur Prävention und Behandlung von Erkrankungen, die durch Ischämie und Reperfusion von zentralen und peripheren Organen ausgelöst werden, wie das akute 20 Nierenversagen, endogene Schockzustände, Darmerkrankungen etc.; zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Hypercholesterinämie; zur Herstellung eines Medikaments zur Prävention der Atherogenese und der Atherosklerose; zur Herstellung eines Medikaments zur Prävention und Behandlung von Krankheiten, die durch erhöhte Cholesterinspiegel ausgelöst werden; zur 25 Herstellung eines Medikaments zur Prävention und Behandlung von Krankheiten, die durch endotheliale Dysfunktion ausgelöst werden; zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung der genannten Leiden in Kombinationen mit blutdrucksenkenden Stoffen, bevorzugt mit Angiotensin Converting Enzyme (ACE)-Hemmern und Angiotensin-Rezeptorantagonisten. Eine Kombination eines NHE- 30 Inhibitors der Formel I oder I a mit einem blutfettspiegelsenkenden Wirkstoff, bevorzugt mit einem HMG-CoA-Reduktaseinhibitor (z. B. Lovastatin oder Pravastatin), wobei letzterer eine hypolipidämische Wirkung herbeiführt und dadurch die hypolipidämischen Eigenschaften des NHE-Inhibitors der Formel I oder I a

steigert, erweist sich als günstige Kombination mit verstärkter Wirkung und vermindertem Wirkstoffeinsatz.

Beansprucht wird die Gabe von Natrium-Protonen-Austausch-Hemmern der Formel I oder I a als neuartige Arzneimittel zur Senkung erhöhter Blutfettspiegel, sowie die Kombination von Natrium-Protonen-Austausch-Hemmern mit blutdrucksenkenden und/oder hypolipidämisch wirkenden Arzneimitteln.

Arzneimittel, die eine Verbindung I oder I a enthalten, können dabei oral, parenteral, intravenös, rektal oder durch Inhalation appliziert werden, wobei die bevorzugte Applikation von dem jeweiligen Erscheinungsbild der Erkrankung abhängig ist. Die Verbindungen I oder I a können dabei allein oder zusammen mit galenischen Hilfsstoffen zur Anwendung kommen, und zwar sowohl in der Veterinär- als auch in der Humanmedizin.

Welche Hilfsstoffe für die gewünschte Arzneimittelformulierung geeignet sind, ist dem Fachmann auf Grund seines Fachwissens geläufig. Neben Lösemitteln, Gelbildnern, Suppositorien-Grundlagen, Tablettenhilfsstoffen und anderen Wirkstoffträgern können beispielsweise Antioxidantien, Dispergiermittel, Emulgatoren, Entschäumer, Geschmackskorrigentien, Konservierungsmittel, Lösungsvermittler oder Farbstoffe verwendet werden.

Für eine orale Anwendungsform werden die aktiven Verbindungen mit den dafür geeigneten Zusatzstoffen, wie Trägerstoffen, Stabilisatoren oder inerten Verdünnungsmitteln vermischt und durch die üblichen Methoden in die geeigneten Darreichungsformen gebracht, wie Tabletten, Dragees, Steckkapseln, wäßrige, alkoholische oder ölige Lösungen. Als inerte Träger können z. B. Gummi arabicum, Magnesia, Magnesiumcarbonat, Kaliumphosphat, Milchzucker, Glucose oder Stärke, insbesondere Maisstärke, verwendet werden. Dabei kann die Zubereitung sowohl als Trocken- als auch als Feuchtgranulat erfolgen. Als ölige Trägerstoffe oder als Lösemittel kommen beispielsweise pflanzliche oder tierische Öle in Betracht, wie Sonnenblumenöl oder Lebertran.

Zur subkutanen oder intravenösen Applikation werden die aktiven Verbindungen, gewünschtenfalls mit den dafür üblichen Substanzen wie Lösungsvermittler, Emulgatoren oder weiteren Hilfsstoffen in Lösung, Suspension oder Emulsion gebracht. Als Lösungsmittel kommen z. B. in Frage: Wasser, physiologische Kochsalzlösung oder Alkohole, z. B. Ethanol, Propanol, Glycerin, daneben auch Zuckerlösungen wie Glucose- oder Mannitlösungen, oder auch eine Mischung aus den verschiedenen genannten Lösungsmitteln.

Als pharmazeutische Formulierung für die Verabreichung in Form von Aerosolen oder Sprays sind geeignet z. B. Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen des Wirkstoffes der Formel I oder I a in einem pharmazeutisch unbedenklichen Lösungsmittel, wie insbesondere Ethanol oder Wasser, oder einem Gemisch solcher Lösungsmittel.

Die Formulierung kann nach Bedarf auch noch andere pharmazeutische Hilfsstoffe wie Tenside, Emulgatoren und Stabilisatoren sowie ein Treibgas enthalten. Eine solche Zubereitung enthält den Wirkstoff üblicherweise in einer Konzentration von etwa 0,1 bis 10, insbesondere von etwa 0,3 bis 3 Gew.-%.

Die Dosierung des zu verabreichenden Wirkstoffs der Formel I oder I a und die Häufigkeit der Verabreichung hängen von der Wirkstärke und Wirkdauer der verwendeten Verbindungen ab; außerdem auch von Art und Stärke der zu behandelnden Krankheit sowie von Geschlecht, Alter, Gewicht und individueller Ansprechbarkeit des zu behandelnden Säugers.

25

Im Durchschnitt beträgt die tägliche Dosis einer Verbindung der Formel I oder I a bei einem etwa 75 kg schweren Patienten mindestens 0,001 mg/kg, vorzugsweise 1-10 mg/kg, bis höchstens 100 mg/kg Körpergewicht. Bei akuten Ausbrüchen der Krankheiten können auch noch höhere und vor allem häufigere Dosierungen notwendig sein, z. B. bis zu 4 Einzeldosen pro Tag. Insbesondere bei i. v. Anwendung, etwa bei einem Infarktpatienten auf der Intensivstation können bis zu 200 mg pro Tag notwendig werden.

Experimenteller Teil:

Verwendete Abkürzungen:

CH ₂ Cl ₂	Dichlormethan
Cl	chemische Ionisation
DIP	Diisopropylether
EE	Ethylacetat
ES	Elektrospray
HOAc	Essigsäure
H ₂ O	Wasser
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
kp	Siedepunkt
MeOH	Methanol
MgSO ₄	Magnesiumsulfat

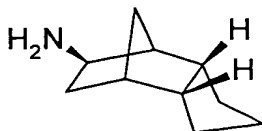
mp	Schmelzpunkt
MS	Massenspektrum
MTB	Methyl-tert.-butylether
NaBH ₄	Natriumborhydrid
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NaOH	Natriumhydroxid
RT	Raumtemperatur
THF	Tetrahydrofuran
TFA	Trifluoressigsäure
HCl	Salzsäure

5

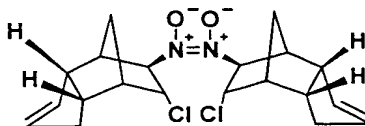
Synthesebeschreibung einiger Amine:

Amin 1)

- 10 Synthese des exo/endo-konfigurierten Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamins:



a1) Bis-(6-chlor-3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-diazon N,N'-dioxid und Isomere



- 15 In eine Mischung aus 167g Dicyclopentadien, 160 ml Eisessig und 160 ml Ethanol gab man 167 g iso-Amylnitrit und tropfte sodann unter Rühren bei -10°C 420 ml einer 15%igen Lösung von Chlorwasserstoff in Ethanol zu. Man rührte weitere 3 Stunden bei Raumtemperatur. Nach Zugabe von 500 ml Diisopropylether rührte man

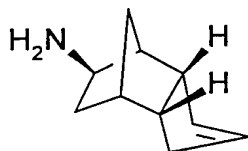
weitere 10 Minuten und filtrierte die Kristalle ab. Nahezu farblose Kristalle, mp. 177-178°C.

b1) Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin

- 5 Eine Suspension aus 10 g Bis-(6-chlor-3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-diazon N,N'-dioxid, 60 ml Methanol und Raney-Nickel wurde über 10 Stunden bei 100°C unter 100 atm H₂-Druck hydriert. Man filtrierte den Katalysator ab, verdampfte das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck, versetzte den halbkristallinen Rückstand mit Wasser und stellte durch
- 10 Zugabe von 10 N NaOH stark alkalisch. Nach 3- bis 4-maligem Extrahieren mit Methyl-tert.-butylether und Trocknen der organischen Phasen über Natriumsulfat destillierte man das Lösungsmittel ab und rektifizierte das Öl im Vakuum. Kp_{5mm} 86 - 91° C

15 oder

a2) 3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-ylamin



- 20 g exo-5-Isothiocyanat-5,6-dihydroendodicyclopentadien (Maybridge international) wurden in 60 ml Ameisensäure gelöst und 27 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt, 50 ml einer 20%igen wäßrigen NaOH-Lösung zugegeben und dreimal mit je 100 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Über MgSO₄ wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Man erhielt 13,4 g eines blaßgelben Öls.

R_f(CH₂Cl₂/MeOH/HOAc/H₂O 32:8:1:1) = 0,57; MS (ES⁺): 150 (M+H)⁺

25

b2) (3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester

- 12,8 g 3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-ylamin wurden in 200 ml THF gelöst und bei RT mit einer Lösung von 18,7 g Di-tert-butyl-dicarbonat in 200 ml THF versetzt. Anschließend wurden 12 ml Triethylamin zugetropft und 2 Stunden bei
- 30

RT gerührt. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit DIP chromatographiert. Man erhielt 15 g eines farblosen Öls, das aus n-Heptan kristallisierte; mp 94° C.

$R_f(\text{DIP}) = 0.68$ MS (CI⁺) : 250 (M+H)⁺

5

c2) (Octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester

500 mg (3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester wurden in 20 ml Methanol und 2 ml Essigsäure gelöst und mit Hilfe von

10 200 mg Pd/C 10% (50% Wasser) unter einer Wasserstoffatmosphäre (1 bar) während 6 Stunden hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert und die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Man erhielt 470 mg eines harzähnlichen amorphen Feststoffs.

$R_f(\text{DIP}) = 0,70$ MS (CI⁺) : 252 (M+H)⁺

15

d2) Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin-Trifluoracetat

460 mg (Octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester wurden in 5 ml Trifluoressigsäure gelöst und 24 Stunden bei RT gerührt. Anschließend wurden die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt, und man erhielt 390 mg eines

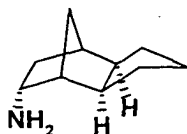
20 blaßgelben Schaums.

$R_f(\text{EE/HEP/MeOH/CH}_2\text{Cl}_2/\text{gesättigte wässrige NH}_3\text{-Lösung } 10:5:5:5:1) = 0,30$

MS (CI⁺): 152 (M+H)⁺

25 Amin 2)

Synthese des endo/exo-konfigurierten Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamins:



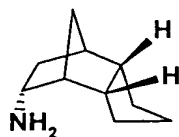
30 Eine zuvor bei 10°C mit NH₃ gesättigte Lösung aus 15 g Tricyclo[5,2,1,0^{2,6}]decan-8-on in 60 ml Methanol wurde nach Zugabe von Raney-Nickel im Autoklaven bei 90°C und einem Wasserstoffdruck von 100 bar über 10 Stunden hydriert. Nach Filtration des Katalysators und Destillation des Lösungsmittels unter vermindertem Druck

stellte man mit 10 N NaOH stark alkalisch und extrahierte 2 - 3-mal mit Ethylacetat oder mit Diisopropylether. Die vereinigten organischen Phasen wurden getrocknet und im Vakuum fraktioniert destilliert. K_{p6-7mm} 86 - 88°C.

5

Amin 3)

Synthese des endo/endo-konfigurierten Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamins:



a) 1,3a,4,6,7,7a-Hexahydro-4,7-methano-inden-5-on-oxim

- 10 10 g Bis-(6-chlor-3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-diazon N,N'-dioxid aus Amin 1, a1) wurden in 75 ml Isoamylalkohol suspendiert und unter Rühren langsam auf Rückfluß erhitzt. Wenn sich alles gelöst hatte, wurde mit dem Eisbad auf Raumtemperatur abgekühlt, und es wurden 25 ml trockenes Ethanol, 12,5 ml Eisessig und 6 g Zinkstaub zugegeben. Nach einer Stunde Rückfluß wurde
- 15 abgekühlt, das Zink abfiltriert und das Ethanol abgezogen. Der Rückstand wurde in 300 ml Ether eingerührt und über Nacht stehengelassen. Der Ether wurde dann vom Niederschlag abdekantiert, und dreimal mit Natriumcarbonat-Lösung und zweimal mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat wurde filtriert und dann das Filtrat eingeeengt. Die anschließende Vakuumdestillation lieferte 3,3 g Öl,
- 20 das direkt weiter umgesetzt wurde.

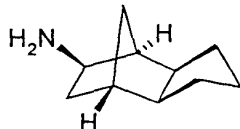
b) Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin

- 2,2 g 1,3a,4,6,7,7a-Hexahydro-4,7-methano-inden-5-on-oxim wurden in 50 ml Methanol gelöst und ca. 10% Raney-Nickel, gelöst in 50% Wasser, zugegeben.
- 25 Nachdem 20 Stunden bei 100 bar und 100°C hydriert worden war, wurde der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel abgezogen. Der Rückstand wurde mit Ether und 6 N Natronlauge aufgenommen, die Phasen getrennt, die wäßrige Phase dreimal mit Ether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Filtrat eingeeengt. Es blieben 1,8 g eines
- 30 farblosen Öls zurück, das durch Kugelrohrdestillation gereinigt wurde. Es wurden 0,96 g des gewünschten Amins als Öl erhalten.

MS (CI⁺): 152,2 (M+H)⁺

Amin 4)

Synthese des *exo/exo*-konfigurierten Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamins:



5

a) Octahydro-4,7-methano-inden-5-ol

25 g Tricyclo[5.2.1.0 (2,6)]decan-8-on (Aldrich) wurden in 100 ml Methanol gelöst und bei Raumtemperatur unter leichter Kühlung und Rühren portionsweise innerhalb von 2 h mit 6,3 g festem Natriumborhydrid versetzt. Anschließend wurde 2 h nachgerührt und über Nacht stehengelassen. Unter Kühlung wurden dann ca. 40 ml 2 N HCl zugetropft, gefolgt von 20 ml Wasser. Das Gemisch wurde eingengt, der Rückstand mit Essigester versetzt und die Essigesterphase einmal mit Wasser und einmal mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Nach Trocknen mit Magnesiumsulfat wurde die Essigesterphase filtriert und eingengt. Es blieben 26 g Öl zurück, das durch Vakuumdestillation gereinigt wurde. Es wurden 20,7 g einer öligen Flüssigkeit erhalten (kp_{0,5} 76°C).

b) 2-(Octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-isoindol-1,3-dion

Zu einer Lösung aus 1,66 g Octahydro-4,7-methano-inden-5-ol, 1,47 g Phthalimid und 2,62 g Triphenylphosphin in 15 ml THF wurden unter Rühren 1,7 g Diethylazodicarboxylat verdünnt mit 5 ml THF gegeben. Nach Stehen über Nacht wurde das Reaktionsgemisch eingedampft, der Rückstand mit Ether verrührt, der Niederschlag abgesaugt und das Filtrat eingengt. Der Rückstand wird über Kieselgel/Toluol gereinigt. Es werden 1,36 g eines gelben Öls erhalten.

MS (CI⁺): 282,2 (M+H)⁺

c) *exo/exo*- Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin

Zu einer Lösung aus 1,12 g 2-(Octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-isoindol-1,3-dion und 15 ml Ethanol wurden 0,4 g Hydrazinhydrat getropft und 2 h bei 65 °C gerührt. Anschließend wurde mit konz. HCl auf pH 1-2 gestellt, mit 10 ml Ethanol versetzt, der Niederschlag abfiltriert und das Filtrat eingengt. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure)

gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurden 567 mg Produkt als Trifluoracetat erhalten. Behandlung mit Natronlauge und Essigester lieferte 322 mg des freien Amins.

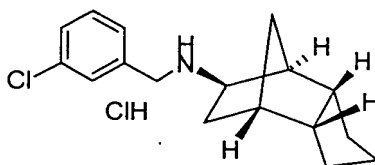
MS (Cl⁺): 152,0 (M+H)⁺

5

Beispiele:

Wenn nicht anders beschrieben, handelt es sich bei den hier angeführten Beispielen um Racemate.

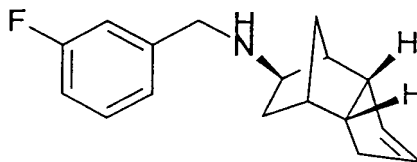
- 10 Beispiel 1: (exo/endo)-(3-Chlor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



Eine Lösung aus 0,54 g des exo/endo-konfigurierten Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamins (Amin 1) und 0,562 g 3-Chlorbenzaldehyd in 20 ml Toluol werden nach Zugabe einer kleinen katalytischen Menge an p-Toluolsulfonsäure für 5 Stunden zum Sieden erhitzt, und nach dem Stehenlassen über Nacht bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel abdestilliert. Man löst den Rückstand in Methanol und gibt sodann unter Rühren zu der eisgekühlten gelben Lösung in kleinen Portionen 0,181 g Natriumborant. Man rührt mehrere Stunden bei Raumtemperatur und stellt sodann mit überschüssiger methanolischer Chlorwasserstoffsäure stark sauer. Nach kurzem Rühren filtriert man den Niederschlag ab und destilliert im Filtrat das Lösungsmittel ab. Der Rückstand bildet eine farblose bis schwach gelbe kristalline Substanz, mp 241°C.

20

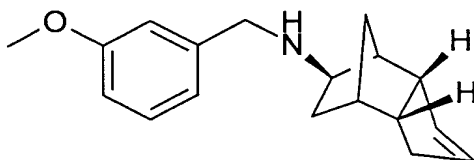
- 25 Beispiel 2: (exo/endo)-(3-Fluor-benzyl)-(3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-amin



300 mg 3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-ylamin (siehe Amin 1, a2), 315 μ l 3-Fluorbenzaldehyd sowie 10 mg p-Toluolsulfonsäure wurden in 5 ml Toluol (wasserfrei) gelöst und 5 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurden die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt, der Rückstand mit 20 ml MeOH aufgenommen, 152 mg NaBH₄ zugegeben und 15 Stunden bei RT stehengelassen. Das Reaktionsgemisch wurde dann mit 200 ml EE verdünnt und zweimal mit je 50 ml einer gesättigten wäßrigen NaHCO₃-Lösung gewaschen. Über MgSO₄ wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Präparative HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (Gradient: 5:95 – 95:5) liefert 150 mg eines farblosen Öls.

$R_f(\text{EE}) = 0,40$; MS (CI⁺) : 258 (M+H)⁺

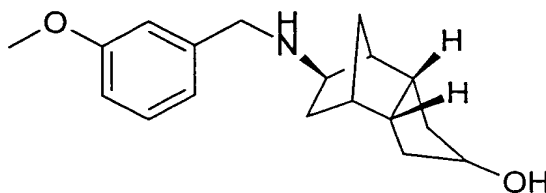
Beispiel 3: (exo/endo)-(3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-(3-methoxy-benzyl)-amin



Die Verbindung des Beispiels 3 wurde analog Beispiel 2) synthetisiert.

$R_f(\text{EE}) = 0,35$; MS (CI⁺) : 270 (M+H)⁺

Beispiel 4: (exo/endo)-5-(3-Methoxy-benzylamino)-octahydro-4,7-methano-inden-2-ol



a) (3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester

12,8 g 3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-ylamin wurden in 200 ml THF gelöst und bei RT mit einer Lösung von 18,7 g Di-tert.-butyl-dicarbonat in 200 ml THF versetzt. Anschließend wurden 12 ml Triethylamin zugetropft und 2 Stunden

bei RT gerührt. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt. Chromatographie an Kieselgel mit DIP lieferte 15 g eines farblosen Öls. Kristallisation aus n-Heptan lieferte 4,9 g farbloser Kristalle, mp 94°C. $R_f(\text{DIP}) = 0,68$; MS (ES⁺): 250 (M+H)⁺

5

b) (2-Hydroxy-octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester

4,87 g (3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester wurden in 30 ml Toluol (wasserfrei) gelöst und bei RT 20 ml einer 2 M Lösung von Boran Dimethylsulfid-Komplex in Toluol zugespritzt. 24 Stunden wurde bei RT gerührt, weitere 10 ml einer 2 M Lösung von Boran Dimethylsulfid-Komplex in Toluol zugespritzt und nochmals 6 Stunden bei RT gerührt. Die flüchtigen Bestandteile wurden anschließend im Vakuum entfernt, 200 ml CH₂Cl₂ und 33 ml einer 3 N wässrigen NaOH-Lösung zugegeben und langsam mit 7 ml einer 30% wässrigen H₂O₂-Lösung versetzt. 10 Minuten wurde bei RT gerührt und weitere 100 ml einer 3 N wässrigen NaOH-Lösung sowie 20 ml einer 30% wässrigen H₂O₂-Lösung zugegeben. Weitere 10 Minuten wurde bei RT gerührt und anschließend das Reaktionsgemisch dreimal mit je 200 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Über MgSO₄ wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Chromatographie an Kieselgel mit MTB lieferte 2,9 g eines amorphen Feststoffs, der noch mit Regioisomeren verunreinigt war.

$R_f(\text{MTB}) = 0,47$; MS (CI⁺) : 268 (M+H)⁺

c) 5-Amino-octahydro-4,7-methano-inden-2-ol-Trifluoracetat
300 mg (2-Hydroxy-octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-carbaminsäure-tert-butylester wurden in 3 ml Trifluoressigsäure gelöst und 30 Minuten bei RT gerührt. Anschließend wurden die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Man erhielt 340 mg eines harzähnlichen Feststoffs, der so weiter eingesetzt wurde.

$R_f(\text{EE/HEP/MeOH/CH}_2\text{Cl}_2/\text{gesättigte wässrige NH}_3\text{-Lösung } 10:5:5:5:1) = 0,28$; MS (ES⁺) : 168 (M+H)⁺

d) 5-(3-Methoxy-benzylamino)-octahydro-4,7-methano-inden-2-ol

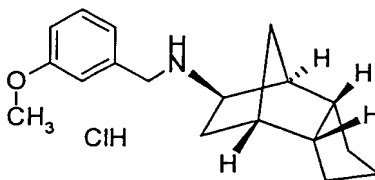
309 mg 5-Amino-octahydro-4,7-methano-inden-2-ol-Trifluoracetat und 225 mg 3-Methoxybenzaldehyd wurden in 10 ml Toluol (wasserfrei) gelöst und 5 Stunden unter

Rückfluß gekocht. Anschließend wurden die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 10 ml MeOH aufgenommen, mit 208 mg NaBH₄ versetzt und 16 Stunden bei RT gerührt. Anschließend wurde mit 100 ml EE verdünnt und zweimal mit je 30 ml einer 10% wäßrigen NaHCO₃-Lösung

- 5 gewaschen. Über MgSO₄ wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Chromatographie an Kieselgel mit EE/MeOH 2:1 lieferte 100 mg eines amorphen Feststoffs.

R_f(EE/MeOH 2:1) = 0,20; MS (ES⁺): 288 (M+H)⁺

- 10 Beispiel 5: *rac*-(*exo/endo*)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



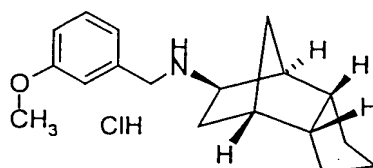
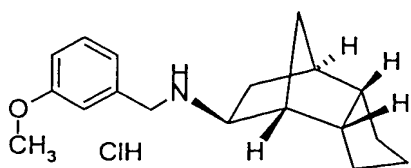
Eine Mischung aus 1,08 g 3-Methoxybenzaldehyd, 1,1 g (*exo/endo*)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin1), einer katalytische Menge p-Toluolsulfonsäure und 20 ml wasserfreiem Toluol wurde 3 Stunden unter Rückfluß gekocht, das Toluol

- 15 unter vermindertem Druck abdestilliert und der Rückstand in 20 ml Methanol gelöst. Zu dieser methanolischen Lösung fügte man in kleinen Portionen unter Kühlung 0,36 g Natriumborhydrid und rührte 18 Stunden bei Raumtemperatur. Nach Zugabe einer Lösung von Chlorwasserstoff in Methanol filtrierte man vom Niederschlag ab und
- 20 destillierte das Lösungsmittel unter vermindertem Druck ab. Man kochte den Rückstand in Ethanol, filtrierte ab und gab zum Filtrat unter Rühren 150 ml Diethylether. Man stellte mehrere Stunden in den Kühlschrank und filtrierte die kristalline Substanz ab. Farblose Kristalle, mp. 190 - 194°C.

- 25 Beispiel 6: (+)-(*exo/endo*)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid

und

(-)-(*exo/endo*)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



500 mg *rac*-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid aus Beispiel 5) wurden in mehreren Läufen auf einer präparativen Säule von Diacel Chemicals (CSP-Chiralpak-AS 250x25, 10 μ) getrennt. Die

- 5 Bedingungen waren wie folgt: Fluß: 3 ml/ min, Temperatur: 24°C, Eluentengemisch: n-Hexan/Ethanol/i-Propanol/TFA 10/1/1/0,1, Wellenlänge: 230 nm.

Nach Gefriertrocknung wurden erhalten:

(+)-Enantiomer: 198 mg, HPLC-Reinheit: 98%

(-)-Enantiomer: 218 mg, HPLC-Reinheit: 99%

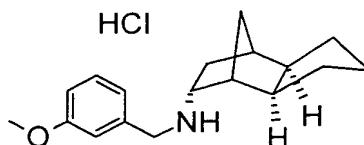
Zur Überführung ins Hydrochlorid wurden 75 mg des jeweiligen Enantiomers mit Kaliumcarbonat-Lösung und Ethylacetat versetzt und gut geschüttelt. Nach Phasentrennung wurde die wäßrige Phase noch zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde mit Ethylacetat über 5 g Kieselgel filtriert, das Filtrat eingengt, der Rückstand mit 2 N Salzsäure versetzt und gefriergetrocknet.

Nach Gefriertrocknung wurden erhalten:

(+)-Enantiomer: 53 mg, Drehwert: +33° (Na, 589 nm), MS (ES⁺): 272,2 (M+H)⁺

(-)-Enantiomer: 51 mg, Drehwert: -32°, (Na, 589 nm), MS (ES⁺): 272,2 (M+H)⁺

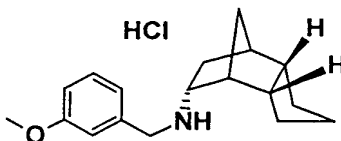
Beispiel 7: (endo/exo)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



- 25 Eine Mischung aus 2,2 g 3-Methoxybenzaldehyd, 40 ml Methanol, 3,3 g (endo/exo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 2) und Raney-Nickelkatalysator wurde im Autoklaven bei 80°C, 60 bar Wasserstoffdruck über 6 Stunden hydriert. Man löste den Rückstand in Ethylacetat, filtrierte vom Katalysator ab, destillierte das

Lösungsmittel unter vermindertem Druck ab, trocknete über Natriumsulfat und vertrieb das Lösungsmittel erneut am Rotavapor. Nach Auflösen des Rückstands in wenig Ethylacetat versetzte man mit einem Überschuß an etherischer Salzsäure, aus der sich unter Rühren ein Niederschlag abschied. Farblose kristalline Substanz (aus Diisopropylether/Methanol) vom mp. 206-208°C.

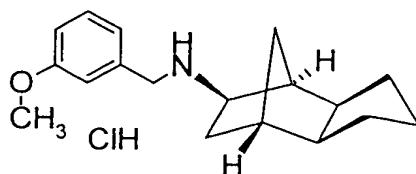
Beispiel 8: (endo/endo)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



190 mg 3-Methoxybenzaldehyd, 211 mg (endo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 3) und 423 mg Triethylamin wurden unter Feuchtigkeitsausschluß in 5 ml trockenem CH_2Cl_2 vorgelegt. Über ein Septum wurden 0,7 ml einer 1 molaren Lösung von Titan-tetrachlorid in Toluol unter Rühren zugetropft. Nach 18 Stunden bei Raumtemperatur wurden 887 mg Triacetoxyborhydrid zugegeben und eine weitere Stunde gerührt. Anschließend wurden 3 ml 5 N Natriumhydroxid-Lösung und 10 ml Wasser zugesetzt, dann wurde dreimal mit 20 ml Ethylacetat extrahiert, getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde in 2 N Salzsäure gelöst und mit Ether extrahiert. Die wäßrige Phase wurde eingedampft und mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser gereinigt. Die sauberen Fraktionen wurden vereinigt, das Acetonitril am Rotationsverdampfer entfernt, mit Kaliumcarbonat auf pH 11 gestellt, mit CH_2Cl_2 extrahiert, die vereinigten Phasen getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wurde mit 2 N Salzsäure und etwas Acetonitril aufgenommen und gefriergetrocknet. Es wurden 10 mg des Hydrochlorids als weißer Feststoff erhalten.

MS (ES⁺): 272,2 (M+H)⁺

Beispiel 9: (exo/exo)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



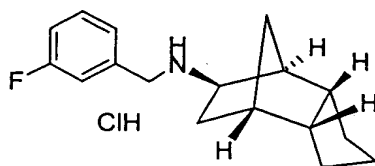
Eine Mischung aus 150 mg 3-Methoxybenzaldehyd, 167 mg (exo/exo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 4), einer katalytischen Menge p-

- 5 Toluolsulfonsäure und 15 ml wasserfreiem Toluol wurde 3 Stunden unter Rückfluß gekocht, das Toluol unter vermindertem Druck abdestilliert und der Rückstand in 10 ml Methanol gelöst. Zu dieser methanolischen Lösung fügte man unter Eiskühlung in kleinen Portionen 50 mg Natriumborhydrid und ließ auf Raumtemperatur kommen. Nach Zugabe einer Lösung von Chlorwasserstoff in Methanol filtrierte man vom
- 10 Niederschlag ab und destillierte das Lösungsmittel unter vermindertem Druck ab. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Das daraus nach Gefriertrocknung erhaltene Trifluoracetat wurde mittels Natronlauge/Essigester in das freie Amin überführt und dann mit 2 N HCl in das Hydrochlorid überführt. Es wurden 125 mg weißes Produkt
- 15 erhalten.

MS (Cl⁺): 272,2 (M+H)⁺

Beispiel 10: (exo/endo)-(3-Fluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-

20 Hydrochlorid



- 124 mg 3-Fluorbenzaldehyd, 151 mg (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) und 303 mg Triethylamin wurden unter Feuchtigkeitsausschluß in 10 ml trockenem CH₂Cl₂ vorgelegt. Über ein Septum wurden 0,5 ml einer einmolaren
- 25 Lösung von Titan-tetrachlorid in Toluol unter Rühren zugetropft. Nach 18 Stunden bei Raumtemperatur wurden 3 ml einer einmolaren Lösung von Natriumcyanoborhydrid in THF zugegeben und weitere 15 min. gerührt. Anschließend wurden 5 ml 5 N Natriumhydroxid-Lösung und 15 ml Wasser zugesetzt, dann wurde dreimal mit 25 ml

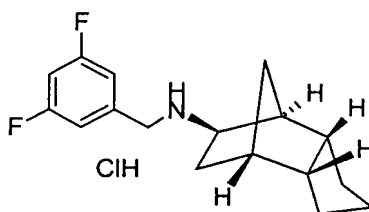
Ethylacetat extrahiert, getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde über Kieselgel filtriert ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Methanol}$ 97:3), erneut zur Trockne gebracht und das Rohprodukt mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser gereinigt. Die sauberen Fraktionen wurden vereinigt, das Acetonitril am

- 5 Rotationsverdampfer entfernt, mit Kaliumcarbonat auf pH 11 gestellt, dreimal mit Ethylacetat extrahiert und die vereinigten Phasen getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wurde mit 2 N Salzsäure und etwas Acetonitril aufgenommen und gefriergetrocknet. Es wurden 144 g mg eines weißen Feststoffs erhalten.

MS (Cl^+): 260 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

10

Beispiel 11: (exo/endo)-(3,5-Difluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid

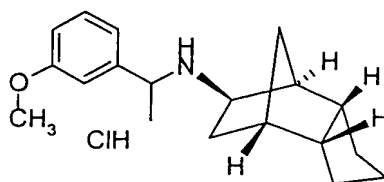


- 15 200 mg 3,5-Difluorbenzaldehyd und 151 mg (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) wurden in 15 ml Toluol (wasserfrei) gelöst, mit 11 mg para-Toluolsulfonsäure versetzt und 3 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurden die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 10 ml Methanol aufgenommen, unter Eiskühlung und Rühren mit 64 mg NaBH_4 versetzt und über Nacht stehengelassen.

- 20 Die Lösung wurde mit methanolischer HCl auf pH 1-2 gestellt, der ausgefallene Feststoff abfiltriert und die Lösung eingeeengt. Der Rückstand wurde heiß in Ethanol gelöst, filtriert und unter Rühren abgekühlt. Zugabe von Diethylether fällte das Produkt. Es wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Es wurden 212 mg eines weißen Feststoffs erhalten.

- 25 MS (Cl^+): 278,3 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

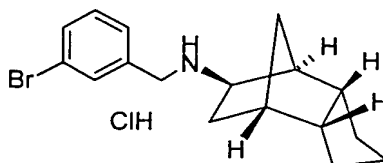
Beispiel 12: (exo/endo)-[1-(3-Methoxy-phenyl)-ethyl]-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



Zu einer Lösung aus 0,75 g 3-Methoxy-acetophenon und 2,7 g (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) in 15 ml n-Pentan tropfte man bei 5-10°C innerhalb von 10 Minuten eine Mischung aus 0,73 g Titantetrachlorid und 3 ml n-Pentan. Man rührte eine weitere Stunde bei 5-10°C und ließ sodann über Nacht bei Raumtemperatur stehen. Nach Filtration des Niederschlages destillierte man das Lösungsmittel am Rotavapor ab. Nun löste man den Rückstand in 20 ml Methanol und versetzte portionsweise unter Kühlung bei 5-10°C mit 0,96 g Natriumborhydrid. Die Mischung wurde 15-20 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und dann das

Lösungsmittel abdestilliert. Man versetzte den Rückstand mit Wasser, stellte mit Salzsäure sauer und behandelte extrahierend mit Ethylacetat, wobei sich Kristalle abschieden, die abfiltriert und aus wenig Wasser umkristallisiert wurden (mp. 257-259°C). Das wäßrige Filtrat stellte man mit 2 N NaOH stark alkalisch, extrahierte mit Ethylacetat und destillierte das Lösungsmittel nach dem Trocknen der organischen Lösung über Natriumsulfat ab. Nach dem Auflösen des Rückstandes in wenig Ethylacetat stellte man mit einer Lösung aus Chlorwasserstoff in Diethylether stark sauer, filtrierte die Kristalle ab und kristallisierte aus wenig Wasser um (mp. 257-259°C).

Beispiel 13: (exo/endo)-(3-Brom-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



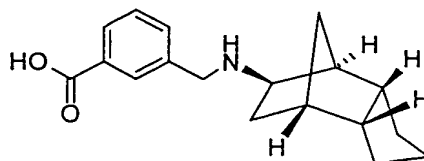
1,9 g 3-Brombenzaldehyd, 1,5 g (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) und 60 mg p-Toluolsulfonsäure wurden in 180 ml wasserfreiem Toluol gelöst und 5 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt und der Rückstand in 120 ml Methanol gelöst. 530 mg NaBH₄ wurden zugegeben und 2 Stunden bei RT gerührt. 18 Stunden wurde bei RT stehen

gelassen, anschließend die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Mit 200 ml einer gesättigten wässrigen NaHCO_3 -Lösung wurde aufgenommen und dreimal mit je 200 ml EE extrahiert. Über MgSO_4 wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit 12 ml einer 10 % wässrigen HCl -Lösung

- 5 aufgenommen und die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit 50 ml EE verrührt und man erhielt 3,0 g des kristallinen Hydrochlorids, mp 248°C .

$R_f(\text{EE}) = 0,44$; MS (CI^+) : 320 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

- 10 Beispiel 14: (exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoesäure



- a) 3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoesäure-butylester
1 g (3-Brom-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid aus

- 15 Beispiel 13), 115 mg 1,3-Bis(diphenylphosphino)propan, 63 mg $\text{Pd}(\text{II})$ acetat sowie 4 ml Tri-n-Butylamin wurden in 10 ml 1-Butanol sowie 2 ml DMF gelöst und unter CO -Atmosphäre (Normaldruck) 8 Stunden bei 110°C gerührt. Anschließend wurden erneut 115 mg 1,3-Bis(diphenylphosphino)propan und 63 mg $\text{Pd}(\text{II})$ acetat zugegeben und weitere 7 Stunden bei 110°C gerührt. Nach dem Abkühlen wurden
- 20 100 ml einer gesättigten wässrigen Na_2CO_3 -Lösung zugegeben und dreimal mit je 100 ml EE extrahiert. Über MgSO_4 wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Chromatographie an Kieselgel mit DIP/2% Triethylamin lieferte 600 mg eines farblosen Öls.

$R_f(\text{DIP}/2\% \text{ Triethylamin}) = 0,42$; MS (ES^+) : 342 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

25

- b) 3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoesäure

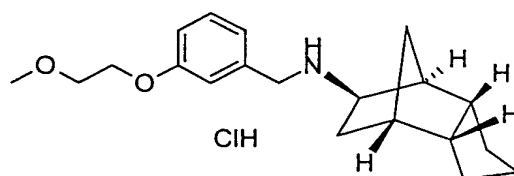
- 600 mg 3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoesäure-butylester wurden in 1 ml n-Butanol gelöst und 2,1 ml einer 1N wässrigen NaOH -Lösung zugegeben. 18 Stunden wurde bei RT, anschließend 4 Stunden bei 60°C
- 30 gerührt. Anschließend wurden die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt und zweimal mit je 5 ml Wasser n-Butanol-Reste unter vermindertem Druck azeotrop

abdestilliert. Der Rückstand wurde mit 5 ml einer 10 %igen wässrigen HCl-Lösung aufgenommen, die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt und zweimal mit je 5 ml Toluol das Wasser unter vermindertem Druck azeotrop abdestilliert. Das Produkt

- 5 Methanol gelöst und mit 1 ml einer 2N wässrigen NaOH-Lösung versetzt. 3 Stunden wurde bei RT gerührt und anschließend weitere 5 ml einer 2N wässrigen NaOH-Lösung zugesetzt und 4 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt, mit 20 ml Wasser aufgenommen und mit verdünnter wässriger HCl-Lösung auf pH = 7 gestellt. 1 Stunde wurde bei RT nachgerührt, das
- 10 Produkt abgesaugt und im Vakuum getrocknet. Man erhielt 260 mg eines kristallinen Feststoffs, mp 258-261°C.

MS (CI+) : 286 (M+H)⁺

- Beispiel 15: (exo/endo)-[3-(2-Methoxy-ethoxy)-benzyl]-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid
- 15



a) 3-(2-Methoxy-ethoxy)-benzaldehyd

1,0 g 3-Hydroxy-benzaldehyd, 1,1 g 1-Brom-2-methoxy-ethan und 10,7 g Cs₂CO₃ wurden in 10 ml DMF (wasserfrei) 4 Stunden bei 40°C gerührt. Mit 100 ml Wasser wurde verdünnt und zweimal mit je 50 ml EE extrahiert. Über MgSO₄ wurde getrocknet

20 und das Solvens im Vakuum entfernt. Man erhielt 1,3 g eines farblosen Öls.

R_f(DIP) = 0,24; MS (CI+) : 181 (M+H)⁺

- b) [3-(2-Methoxy-ethoxy)-benzyl]-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid
- 25

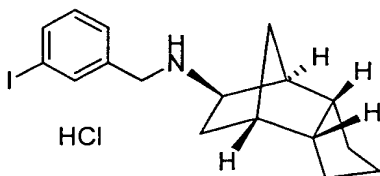
300 mg 3-(2-Methoxy-ethoxy)-benzaldehyd, 253 mg (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) und 10 mg p-Toluolsulfonsäure wurden in 30 ml wasserfreiem Toluol gelöst und 5 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt und der Rückstand in 20 ml Methanol

30 gelöst. 90 mg NaBH₄ wurden zugegeben und 2 Stunden bei RT gerührt. 18 Stunden

wurde bei RT stehen gelassen, anschließend die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Mit 50 ml einer gesättigten wässrigen NaHCO_3 -Lösung wurde aufgenommen und dreimal mit je 50 ml EE extrahiert. Über MgSO_4 wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit 2 ml einer 10%igen wässrigen HCl-Lösung aufgenommen und die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit 10 ml Diethylether verrührt und man erhielt 163 mg des kristallinen Hydrochlorids, mp 134°C .

$R_f(\text{EE}) = 0,30$; MS (Cl^+) : 316 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

- 10 Beispiel 16: (exo/endo)-(3-Iod-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



a) 1-Brommethyl-3-iod-benzol

4,4 g 3-Iod-toluol wurden in 10 ml Chlorbenzol gelöst und bei 132°C portionsweise mit einem Gemisch aus 3,6 g N-Bromsuccinimid und 100 mg Dibenzoylperoxid versetzt. Eine Stunde wurde bei 132°C nachgerührt, nach dem Abkühlen mit 100 ml EE verdünnt und zunächst mit 100 ml einer gesättigten wässrigen Na_2SO_3 -Lösung und dann mit 100 ml einer gesättigten wässrigen Na_2CO_3 -Lösung gewaschen. Über MgSO_4 wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Man erhielt 5,3 g eines blaßgelben Öls.

$R_f(\text{EE/HEP } 1:8) = 0,44$; MS (ES^+) : 298 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

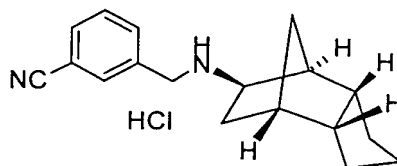
b) (3-Iod-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid

755 mg (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) und 830 μl Triethylamin wurden in 20 ml wasserfreiem THF gelöst und bei 0°C langsam mit 2,8 g 1-Brommethyl-3-iod-benzol versetzt. 30 Minuten wurde bei 0°C , anschließend 5 Tage bei RT gerührt. Dann wurden 100 ml einer gesättigten wässrigen Na_2CO_3 -Lösung zugegeben und zweimal mit je 100 ml EE extrahiert. Über MgSO_4 wurde getrocknet und das Solvens im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 20 ml Methanol gelöst und mit einer 10%igen wässrigen HCl-Lösung auf pH < 2 gestellt. Die flüchtigen Bestandteile wurden anschließend im Vakuum entfernt, der Rückstand mit 10 ml EE

verrührt und im Vakuum getrocknet. Man erhielt 1,74 g farbloser Kristalle, mp 220-224°C (unter Zersetzung)

MS (CI+) : 368 (M+H)⁺

- 5 Beispiel 17: (exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzonitril-Hydrochlorid



750 mg 3-Cyanobenzaldehyd, 865 mg (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) und 1,74 g Triethylamin wurden unter Feuchtigkeitsausschluß in 30 ml trockenem CH₂Cl₂ vorgelegt. Über ein Septum wurden 2,86 ml einer einmolaren Lösung von Titan-tetrachlorid in Toluol unter Rühren zugetropft. Nach 18 Stunden bei Raumtemperatur wurden 17,2 ml einer einmolaren Lösung von Natriumcyanoborhydrid in THF zugegeben und weitere 15 min gerührt.

Anschließend wurden 20 ml 5 N Natriumhydroxid-Lösung und 60 ml Wasser

- 15 zugesetzt, dann wurde dreimal mit 50 ml Ethylacetat extrahiert, getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde über Kieselgel filtriert (CH₂Cl₂/Methanol 97:3), erneut zur Trockne gebracht und das Rohprodukt mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Nach Gefriertrocknung werden 1,1 g des gewünschten Produkts als
- 20 weißes Pulver in Form des Trifluoracetats erhalten.

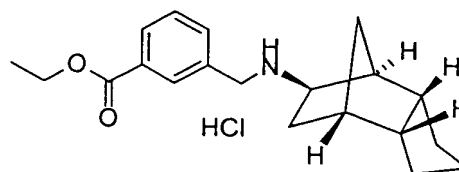
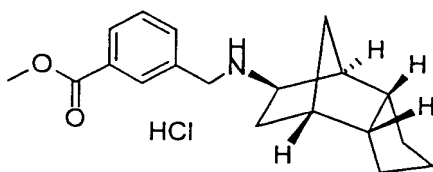
250 mg dieses Pulvers wurden, wie in Beispiel 9) beschrieben, in das Hydrochlorid überführt. Es wurden 175 mg eines weißen Feststoffs erhalten.

MS (CI+): 267,3 (M+H)⁺

- 25 Beispiel 18: (exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoesäuremethyl ester-Hydrochlorid

und

(exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoesäureethyl ester-Hydrochlorid



a) (exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzimidic acid-ethylester-Dihydrochlorid

500 mg 3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzonitril-

- 5 Trifluoracetat aus Beispiel 17) wurden in 20 ml trockenem Ethanol (mit 5% Methanol und 5 Isopropanol vergällt) gelöst und unter Rühren und Eiskühlung 3 Stunden Chlorwasserstoff-Gas durch die Lösung geleitet. Über Nacht wurde bei Raumtemperatur stehengelassen und am nächsten Tag mit Stickstoff das überschüssige Chlorwasserstoff-Gas ausgetrieben und der Rückstand eingeeengt. Es wurden 587 mg Benzamidinsäure-ethylester als weißes Pulver erhalten, das durch geringe Anteile Benzamidinsäure-methylester verunreinigt war. Das Rohprodukt wurde direkt weiter umgesetzt.

b) (exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoesäure methyl ester-Hydrochlorid

und

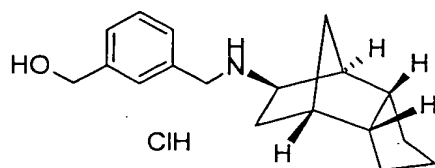
(exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzoesäure ethyl ester-Hydrochlorid

- 20 100 mg des Produktes aus a) wurden in 6 ml eines Gemisches aus Wasser und Trifluoressigsäure (5:1) gelöst und 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Stehenlassen über Nacht wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Die dabei anfallenden Trifluoracetat-Verbindungen des
- 25 Ethyl- und Methylesters wurden mit Kaliumcarbonat-Lösung aufgenommen und mit Essigester extrahiert. Nach Trocknen und Abziehen des Essigesters wurde der Rückstand mit 2 N Salzsäure versetzt und gefriergetrocknet. Es wurden 28 mg des Ethylesters und 7 mg des Methylesters erhalten.

Methylester: MS (ES⁺): 300,2 (M+H)⁺

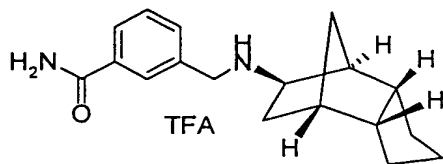
30 Ethylester: MS (ES⁺): 314,3 (M+H)⁺

Beispiel 19: (exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-phenyl}-methanol-Hydrochlorid



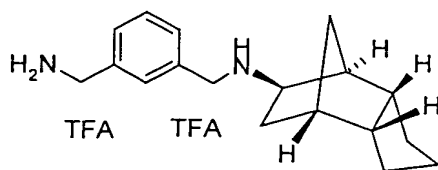
- 5 Zu 0,43 ml einer einmolaren THF-Lösung von Lithiumaluminiumhydrid wurden unter Rühren und Feuchtigkeitsausschluß 50 mg eines in 5 ml THF gelösten Methyl-/Ethylester-Gemisches, hergestellt wie in Beispiel 18 b) beschrieben, zugetropft. Nach Rühren bei Raumtemperatur und Stehenlassen über das Wochenende wurde unter Eiskühlung langsam Wasser zugetropft, der gebildete Niederschlag abgesaugt und gut mit Essigester gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit Essigester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abfiltrieren des Trockenmittels wurde das Lösungsmittel abgezogen und der Rückstand mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Anschließend wurde, wie in
- 15 Beispiel 10) beschrieben, in das Hydrochlorid überführt. Nach Gefriertrocknung wurden 7 mg Produkt erhalten. MS (ES⁺): 272,2 (M+H)⁺

Beispiel 20: (exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzamid-Trifluoracetat



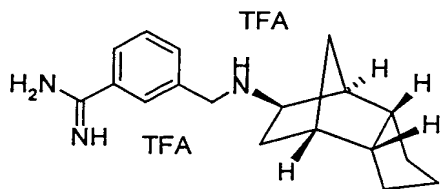
- 45 mg 3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzimidinsäure-ethylester-Dihydrochlorid aus Beispiel 18 a) wurden 8 Stunden auf 60°C erwärmt und anschließend drei Wochen bei Raumtemperatur stengelassen. Der Feststoff
- 25 wurde anschließend mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurden 4 mg des gewünschten Produkts isoliert. MS (ES⁺): 285,2 (M+H)⁺

Beispiel 21: (exo/endo)-(3-Aminomethyl-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Bis-trifluoacetat



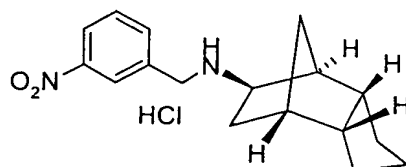
- 5 Zu 5 ml einer einmolaren Lösung von Lithiumaluminiumhydrid in THF wurden 100 mg 3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzonitril-Trifluoracetat aus Beispiel 17), gelöst in 5 ml trockenem THF, zugetropft. Anschließend wurde 5 Stunden auf 80°C erwärmt. Unter Eiskühlung wurde dann langsam Wasser zugetropft und mit Natronlauge versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Ether gewaschen. Nach Extrahieren der wäßrigen Phase wurden die vereinigten organischen Phasen getrocknet und anschließend das Trockenmittel abfiltriert. Nach Einengen wurde der Rückstand mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurden 26 mg Produkt isoliert.
- 15 MS (ES⁺): 271,2 (M+H)⁺

Beispiel 22: (exo/endo)-3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzamidin-Bis-trifluoracetat



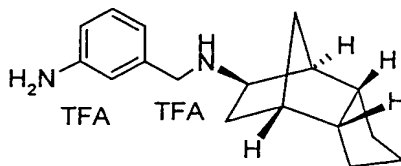
- 20 200 mg 3-[(Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamino)-methyl]-benzimidinsäure-ethylester-Dihydrochlorid aus Beispiel 18 a) wurden in 15 ml trockenem Ethanol gelöst und langsam ca. 20 ml Ammoniak einkondensiert. Nach 3 Stunden unter rückflüssierendem Ammoniak läßt man das Ammoniak über Nacht verdampfen. Der Rückstand wird eingeeengt und dann mittels präparativer HPLC an RP-18 mit
- 25 Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Nach Gefriertrocknung werden 89 mg des gewünschten Produkts erhalten.
- MS (CI⁺): 284,3 (M+H)⁺

Beispiel 23: (exo/endo)-(3-Nitro-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



- 5 750 mg 3-Nitrobenzaldehyd, 751 mg (exo/endo)-Octahydro-4,7-methano-inden-5-ylamin (Amin 1) und 1,5 g Triethylamin wurden unter Feuchtigkeitsausschluß in 30 ml trockenem CH_2Cl_2 vorgelegt. Über ein Septum wurden 2,48 ml einer einmolaren Lösung von Titan-tetrachlorid in Toluol unter Rühren zugetropft. Nach 18 Stunden bei Raumtemperatur wurden 14,89 ml einer einmolaren Lösung von
- 10 Natriumcyanoborhydrid in THF zugegeben und weitere 15 min. gerührt. Anschließend wurden 20 ml 5 N Natriumhydroxid-Lösung und 60 ml Wasser zugesetzt, dann wurde dreimal mit 50 ml Ethylacetat extrahiert, getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde über Kieselgel filtriert
- 15 (CH_2Cl_2 /Methanol 95:5), erneut zur Trockne gebracht und das Rohprodukt mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Ein Teil des so erhaltenen (3-Nitro-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Trifluoracetats wurde zwischen Essigester und Kaliumcarbonat-Lösung verteilt (pH 11). Die wäßrige Phase wurde noch dreimal mit Ethylacetat extrahiert und die vereinigten organischen Phasen getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand
- 20 wurde mit 2 N Salzsäure und etwas Acetonitril aufgenommen und gefriergetrocknet. Es wurden 300 mg eines weißen Feststoffs erhalten.
- MS (ES⁺): 287,2 (M+H)⁺

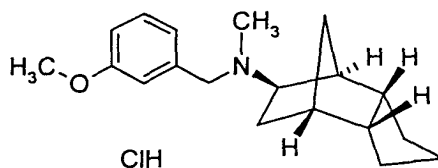
Beispiel 24: (exo/endo)-(3-Amino-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Bis-trifluoracetat



100 mg (3-Nitro-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Trifluoracetat aus Beispiel 23) wurden in einem Gemisch aus je 5 ml Ethanol und Eisessig gelöst.

Anschließend wurden 57 mg Zinkpulver zugegeben und 4 Stunden bei 60°C gerührt. Es wurden dann weitere 25 g Zinkpulver zugegeben und nochmals zwei Stunden bei 60°C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde eingeeengt, der Rückstand in Essigester aufgenommen und die organische Phase dreimal mit Kaliumcarbonat-Lösung gewaschen, getrocknet, filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurden 23 mg des gewünschten Produkts erhalten. MS (ES⁺): 257,2 (M+H)⁺

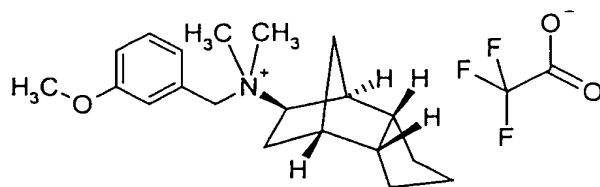
- 10 Beispiel 25: (exo/endo)-(3-Methoxy-benzyl)-methyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin-Hydrochlorid



50 mg (exo/endo)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin aus Beispiel 5) wurden in 5 ml trockenem Aceton vorgelegt, 20 mg Kaliumcarbonat zugegeben, 30 min. gerührt und dann 9 µl Methyljodid zugetropft. Nach Stehenlassen übers Wochenende wurde das Reaktionsgemisch eingeeengt, der Rückstand mit Wasser und Ethylacetat aufgenommen, die Phasen getrennt, die wäßrige Phase zweimal mit Ethylacetat extrahiert und die vereinigten organischen Phasen getrocknet, filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wird an Kieselgel mit Essigester/Heptan chromatographiert. Das erhaltene Amin wurde mit 2 N Salzsäure aufgenommen und gefriergetrocknet. Es werden 14 mg des gewünschten Produkts erhalten.

MS (CI⁺): 286,4 (M+H)⁺

Beispiel 26: (exo/endo)-(3-Methoxy-benzyl)-dimethyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-ammonium-Trifluoracetat



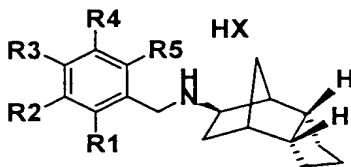
53 mg (exo/endo)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin aus

- 5 Beispiel 5 wurden in 5 ml trockenem Aceton vorgelegt und dann 61 μ l Methyljodid zugetropft. Nach Stehenlassen übers Wochenende wurden weitere 50 μ l Methyljodid zugegeben. Nach Stehenlassen über Nacht wurden drei Tropfen N-Ethyl-diisopropylamin zugegeben und weitere 5 Stunden gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch eingeeengt und mittels präparativer HPLC an RP-18 mit Acetonitril/Wasser (0,05% Trifluoressigsäure) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurden 53 mg des gewünschten Produkts erhalten.

MS (ES+): 300,3 (M^+)

Die nachfolgend beschriebenen Verbindungen wurden entsprechend dem

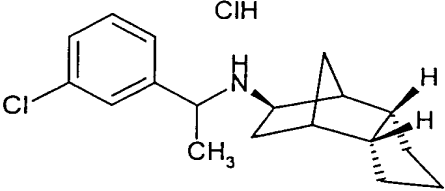
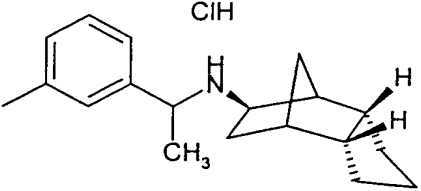
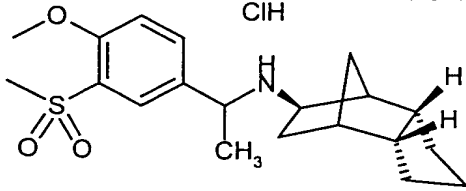
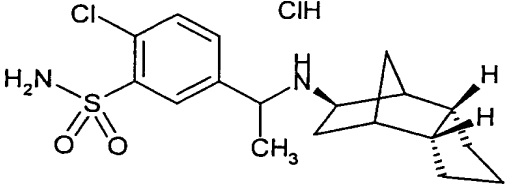
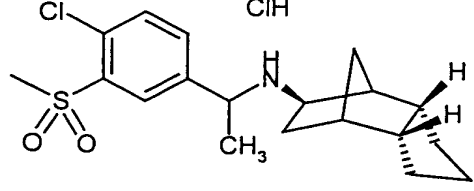
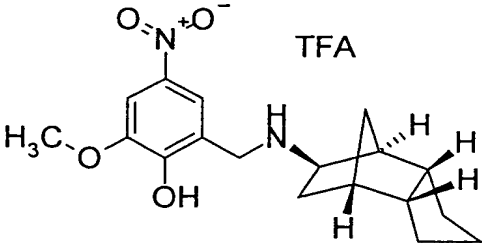
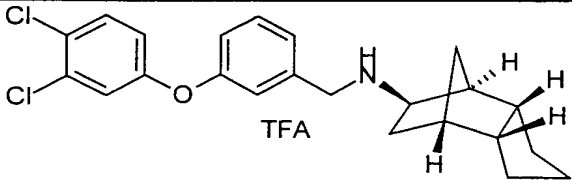
- 15 angegebenen Beispiel dargestellt:



Bei- spiel	analog Beispiel	R1	R2	R3	R4	R5	HX	MS
27	5	-H	-H	-OCH ₃	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 272,3
28	5	-OCH ₃	-H	-H	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 272,3

29	5	-H	-OCH ₃	-H	-H	-OCH ₃	HCl	ES+ (M+H) ⁺ 302,2
30	5	-H	-OCH ₂ O-		-H	-H	HCl	ES+ (M+H) ⁺ 286,2
31	5	-H	-OCH ₃	-OCH ₃	-H	-H	-	Cl+ (M+H) ⁺ 302,4
32	5	-OCH ₃	-H	-OCH ₃	-H	-H	HCl	ES+ (M+H) ⁺ 302,3
33	5	-H	-OCH ₃	-F	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 290,3
34	5	-H	-OH	-H	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 258,2
35	10	-H	-OCF ₃	-H	-H	-H	TFA	ES+ (M+H) ⁺ 326,2
36	10	-H	-OEt	-H	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 286,3
37	10	-H	-OCF ₂ CF ₂ H	-H	-H	-H	TFA	ES+ (M+H) ⁺ 358,2
38	10	-H	-OPr ⁱ	-H	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 300,3
39	10	-H	-OEt	-OCH ₃	-H	-H	TFA	ES+ (M+H) ⁺ 316,3

40	5	-H	-CH ₃	-H	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 256,3
41	10	-H	-CF ₃	-H	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 310,3
42	5	-OCH ₃	-CO ₂ CH ₃	-OCH ₃	-H	-H	HCl	ES+ (M+H) ⁺ 360,2
43	11	-H	-F	-F	-F	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 296,3
44	5	-H	-Cl	-H	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 276,2
45	5	-H	-SO ₂ NH ₂	-Cl	-H	-H	HCl	Cl+ (M+H) ⁺ 355,1

Beispiel		Analog Beispiel	MS
46		12	ES+ (M+H)+ 290,1
47		12	ES+ (M+H)+ 270,2
48		12	ES+ (M+H)+ 364,2
49		12	ES+ (M+H)+ 369,1
50		12	ES+ (M+H) 368,2
51		10	ES+ (M+H)+ 333,2
52		10	ES+ (M+H)+ 402,2 (³⁵ Cl)

Pharmakologische Daten:

Beschreibung des Diurese-Versuchs:

5 Methode

Der Salidiurese-Versuch wurde an männlichen Wistar-Ratten im Gewicht von 155 bis 175 g durchgeführt. Den Tieren wurde 16 Stunden vor Versuchsbeginn das Futter, nicht jedoch das Trinkwasser, entzogen. Die Ratten wurden randomisiert in Diurese-Käfige gesetzt. Die Substanz von Beispiel 5) wurde in Trinkwasser gelöst und in einer Dosierung von 20 mg/kg Körpergewicht oral in einem Volumen von 10 ml/kg appliziert. Die Kontrollgruppe erhielt oral das entsprechende Volumen an Trinkwasser als Vehikel. Die Urinausscheidung jeder Gruppe wurde in den ersten 5 Stunden und in der Zeit von 6-24 Stunden gemessen. Die Harn Elektrolyte Natrium und Kalium wurden flammenphotometrisch (Flammen-Photometer Eppendorf, Hamburg) und Chlorid potentiometrisch (Chloridmeter Eppendorf) bestimmt. Die Harnosmolalität wurde mit der Methode der Gefrierpunktserniedrigung (Osmometer Vogel, Gießen) ermittelt. Die Urin- und Elektrolytausscheidung sowie Osmolalität sind in ml/kg, mmol/kg bzw. mosmol/kg Körpergewicht angegeben. Das Verhältnis Na^+/K^+ läßt die Wirkqualität eines Diuretikums erkennen. Die Ergebnisse in der Tabelle repräsentieren arithmetische Mittelwerte mit Standardabweichung.

Ergebnisse:

				Harn	Na	K	Cl	Osmolalität	Na/K
				ml/kg	mmol/kg			mosmol/kg	
Vehikel Kontrolle Trinkwasser 10 ml/kg KG p.o. n=5	Mittelwert	1 -5- Stunden	9,73	0,26	0,48	0,38	6,48	0,61	
	SD		3,69	0,14	0,20	0,23	1,33	0,36	
	Mittelwert	6 - 24 Stunden	26,84	1,75	3,95	1,44	32,32	0,45	
	SD		6,44	0,47	0,93	0,40	7,17	0,12	
	Mittelwert	Summe	36,57	2,01	4,42	1,82	38,81	0,47	
SD	1 - 24 Stunden	9,08	0,37	0,97	0,26	7,00	0,11		

Beispiel 5 50 mg in 10 ml Trinkwasser /kg KG p.o. n=5	Mittelwert	1 -5- Stunden	12,39	0,31	0,75	0,60	7,82	0,47	
	SD		8,03	0,27	0,43	0,37	3,08	0,31	
	Mittelwert	6 - 24 Stunden	22,57	1,29	3,57	1,57	30,51	0,37	
	SD		6,00	0,66	0,60	0,54	5,06	0,18	
	Mittelwert	Summe	34,96	1,60	4,31	2,17	38,33	0,38	
SD	1 - 24 Stunden	9,14	0,64	0,61	0,41	3,47	0,16		

Beurteilung: Die Substanz von Beispiel 5) zeigte in einer Dosierung von 50 mg/kg oral an der Ratte keine salidiuretische Wirkung im Vergleich zur Kontrolle.

Beschreibung des Caco 2-Modells

Die Caco-2-Zelllinie wurde bei American Type Culture Collection (ATCC) erworben und in Dulbecco's Modified Eagle Medium (hoher Glucoseanteil), ergänzt mit nichtessenziellen Aminosäuren, L-Glutamin, Penicillin/Streptomycin und 10 %igem fötalem Kälberserum, in einem Inkubator unter einer 10%igen CO₂-Atmosphäre bei 95%iger relativer Luftfeuchtigkeit und 37°C gehalten. Die Zellen wurden in Zellkulturkolben (175 cm²) gezogen.

Für die Transport-Untersuchungen wurden die Caco-2-Zellen auf Polycarbonat Zellkultureinlagen (Costar Transwells®, Porengröße: 3 µm, Fläche: 4,71 cm²) mit einer Zelldichte von 6,5 x 10⁴ Zellen/cm² ausgesät und in Sechs-Well-Kulturplatten mit Mediumwechsel nach vier und acht Tagen und dann jedem zweiten Tag inkubiert. Für die Experimente wurden 21 bis 25 Tage alte Monoschichten verwandt.

In jeder Testreihe wurde eine 21 Tage alte Monoschicht mit ³H-Dextran als Permeabilitätsmarker auf ihre Eigenschaften getestet. Der Wert der Transferrate (kumulativ) mußte nach 120 min im Bereich von 2% sein.

Nach Beseitigen des Wachstumsmediums von der apicalen und der basolateralen Seite wurden die Monoschichten mit dem Transport-Puffer (Hank's balanced salt solution pH 7,8; enthält 2,8 g/l Glucose) gespült, und die Zellen wurden 15 min bei

37°C unter 10%iger CO₂-Atmosphäre equilibriert. Danach wird der HBSS-Puffer wieder entfernt.

Die Testverbindungen wurden in einem Gemisch aus HBSS-Puffer und DMSO gelöst und zum apicalen Puffer gegeben, so daß eine 1%ige (V/V) DMSO-Lösung resultierte. Die Testkonzentration im ersten Versuch betrug 1 mM, im zweiten 100µM. Die Versuche wurden bei 37°C durchgeführt und mit der Zugabe von 1,5 ml Testlösung auf der Donorseite (apical) gestartet. Transport-Puffer ohne Verbindung wurde auf die Empfängerseite (basolateral, 2,5 ml) gegeben. Zu verschiedenen Zeitpunkten wurden Proben von der basolateralen Seite genommen (1 ml) und durch frische 37°C warme Pufferlösung ersetzt. Apicale Proben wurden zu Beginn und am Ende (120 min) genommen, um anhand dieser Konzentrationen und der kumulativen basolateralen Konzentration die Wiederfindungsrate der Verbindungen zu bestimmen.

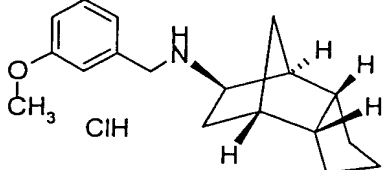
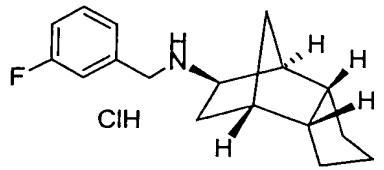
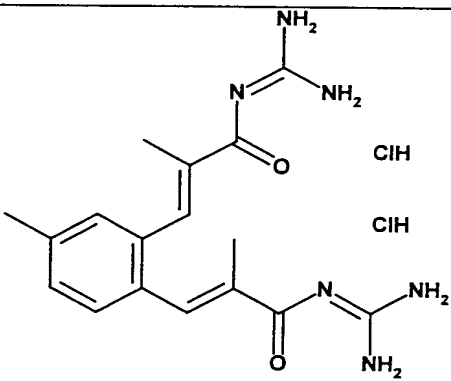
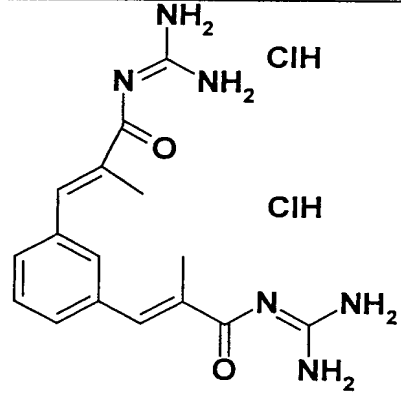
Die Verbindungen wurden mittels HPLC analysiert.

Der scheinbare Permeabilitätskoeffizient (P_{app}) wird über folgende Gleichung berechnet:

$$P_{app} = \frac{d_c \cdot V}{d_t \cdot A \cdot c_0}$$

darin bedeuten d_c/d_t den Fluß durch die Monoschicht (µg oder Verbindung/ml x s), V das Flüssigkeitsvolumen in der Auffangkammer (ml), A die Oberflächengröße der Monoschicht (cm²) und c_0 die Anfangskonzentration (µg oder Verbindung/ml) in der Donorkammer. Der Fluß durch die Monoschicht wurde aus der kumulativen basolateralen Konzentration zum entsprechende Zeitpunktpunkt unter Zuhilfenahme der anfänglich linearen Datenkurve (linear bis zu 60 min) errechnet. Die jeweiligen Bestimmungen wurden dreifach gemacht, so daß der berechnete P_{app} -Wert den Mittelwert dreier Messungen darstellt. P_{app} -Werte ausgewählter Verbindungen wurden mit literaturbekannten Absorptions-Werten korreliert und ergaben eine sigmoidale Kalibrierungskurve. Nach Untersuchungen von Artursson (Artursson P., Karlsson J.; Biochem. Biophys. Res. Comm. 1991;175/3: 880-885) läßt sich anhand dieser Kurve eine Aussage über den absorbierten Anteil einer Verbindung machen.

Ergebnisse:

		absorbierter Anteil [%]
Beispiel 5		100
Beispiel 10		100
S 3226		<5
S 2120		<1

5 Gegenüber den literaturbekannten NHE3-aktiven Verbindungen vom Acylguanidin-Typ (J.-R. Schwark et al. Eur. J. Physiol (1998) 436:797) zeigen die Verbindungen der Formel I oder I a eine deutlich überlegene Membrangängigkeit.

Beschreibung der NHE-Aktivitätsmessungen:

Die meisten der molekularbiologischen Techniken folgen Protokollen aus den Werken "Current Protocols in Molecular Biology (eds. Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A. und Struhl, K.; John Wiley & Sons)" bzw: "Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Sambrock, J., Fritsch, E.F. und Maniatis, T.; Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989))".

Im Rahmen unserer Arbeiten wurden stabil transfizierte Zelllinien erzeugt, die jeweils einen der folgenden NHE-Subtypen exprimieren: NHE1 des Menschen (Sardet et al. (1989) Cell 56, 271-280), NHE2 des Kaninchens (Tse et al. (1993) J. Biol. Chem. 268, 11917 - 11924), NHE3 des Menschen (Brant et al. (1995) Am. J. Physiol. 269 (Cell Physiol. 38), C198 – C206) bzw. NHE3 der Ratte (Orlowski et al.; J. Biol. Chem. 267, 9331 - 9339 (1992)).

Die von Prof. Pouyssegur erhaltenen cDNA-Klone der jeweiligen NHE-Subtypen wurden nach Anfügen geeigneter Linkersequenzen so in das Expressionsplasmid pMAMneo (erhältlich z. B. über CLONTECH, Heidelberg) einkloniert, daß die Erkennungssequenz für die Restriktionsendonuklease *NheI* des Plasmids etwa 20 - 100 Basenpaare vor dem Startcodon des jeweiligen NHE-Subtyps liegt und die gesamte codierende Sequenz in dem Konstrukt vorhanden ist. Bei dem über RT-PCR aus humaner Nieren mRNA erhaltenem humanen NHE3 wurden die RT-PCR Primer so gewählt, daß die erhaltene cDNA-Bande an ihren Enden zu pMAMneo passende Schnittstellen aufweist.

Mit der sog. "Calciumphosphat-Methode" (beschrieben in Kapitel 9.1 von "Current Protocols in Molecular Biology") wurde die NHE-defiziente Zelllinie LAP1 (Franchi et al.; Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83, 9388 - 9392 (1986)) mit den Plasmiden, die die jeweiligen codierenden Sequenzen der NHE-Subtypen erhalten, transfiziert. Nach Selektion auf transfizierte Zellen über Wachstum in G418-haltigem Medium (nur Zellen, die durch Transfektion ein neo-Gen erhalten haben, können unter diesen Bedingungen überleben) wurde auf eine funktionelle NHE-Expression selektioniert.

Dazu wurde die von Sardet beschriebene "Acid Load"-Technik verwendet (Sardet et al.; Cell 56, 271 - 280 (1989)). Zellen, die einen funktionsfähigen NHE-Subtypen exprimieren, können auch bei Abwesenheit von CO_2 und HCO_3^- die bei diesem Test vorgenommene Ansäuerung kompensieren, untransfizierte LAP1-Zellen dagegen

nicht. Nach mehrmaliger Wiederholung der "Acid Load" Selektion wurden die überlebenden Zellen in Mikrotiterplatten so ausgesät, daß statistisch eine Zelle pro Well vorkommen sollte. Unter dem Mikroskop wurde nach etwa 10 Tagen überprüft, wie viele Kolonien pro Well wuchsen. Zellpopulationen aus Einzelkolonien wurden dann mit dem XTT-Proliferation Kit (Boehringer Mannheim) hinsichtlich ihrer Überlebensfähigkeit nach "Acid Load" untersucht. Die besten Zelllinien wurden für die weiteren Tests verwendet und zur Vermeidung eines Verlustes der transfizierten Sequenz unter ständigem Selektionsdruck in G418-haltigem Medium kultiviert. Zur Bestimmung von IC₅₀-Werten für die Hemmung der einzelnen NHE-Subtypen durch spezifische Substanzen wurde ein von S. Faber entwickelter Test (Faber et al.; Cell. Physiol. Biochem. 6, 39 - 49 (1996)), der auf der "Acid Load" Technik beruht, leicht abgewandelt.

In diesem Test wurde die Erholung des intrazellulären pHs (pH_i) nach einer Ansäuerung ermittelt, die bei funktionsfähigem NHE auch unter bicarbonatfreien Bedingungen einsetzt. Dazu wurde der pH_i mit dem pH-sensitiven

Fluoreszenzfarbstoff BCECF (Calbiochem, eingesetzt wird die Vorstufe BCECF-AM) bestimmt. Die Zellen wurden zunächst mit BCECF beladen. Die BCECF-Fluoreszenz wurde in einem "Ratio Fluorescence Spectrometer" (Photon Technology International, South Brunswick, N.J., USA) bei Anregungswellenlängen von 505 und 440 nm und einer Emissionswellenlänge von 535 nm bestimmt und mittels Kalibrierungskurven in den pH_i umgerechnet. Abweichend von dem beschriebenen Protokoll wurden die Zellen bereits bei der BCECF-Beladung in NH₄Cl-Puffer (pH 7,4) inkubiert (NH₄Cl-Puffer: 115 mM NaCl, 20 mM NH₄Cl, 5 mM KCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM MgSO₄, 20 mM Hepes, 5 mM Glucose, 1 mg/ml BSA; mit 1 M NaOH wird ein pH von 7,4 eingestellt). Die intrazelluläre Ansäuerung wurde durch Zugabe von 975 µl eines NH₄Cl-freien Puffers zu 25 µl Aliquots der in NH₄Cl-Puffer inkubierten Zellen induziert. Die nachfolgende Geschwindigkeit der pH-Erholung wurde bei NHE1 2 Minuten, bei NHE2 5 Minuten und bei NHE3 3 Minuten registriert. Für die Berechnung der inhibitorischen Potenz der getesteten Substanzen wurden die Zellen zunächst in Puffern untersucht, bei denen eine vollständige bzw. überhaupt keine pH-Erholung stattfand. Zur vollständigen pH-Erholung (100%) wurden die Zellen in Na⁺-haltigem Puffer inkubiert (133,8 mM NaCl, 4,7 mM KCl, 1,25 mM CaCl₂, 1,25

mM MgCl_2 , 0,97 mM Na_2HPO_2 , 0,23 mM NaH_2PO_4 , 5 mM Hepes, 5 mM Glucose, mit 1 M NaOH wird ein pH von 7,0 eingestellt). Für die Bestimmung des 0%-Wertes wurden die Zellen in einem Na^+ -freien Puffer inkubiert (133,8 mM Cholinchlorid, 4,7 mM KCl, 1,25 mM CaCl_2 , 1,25 mM MgCl_2 , 0,97 mM K_2HPO_2 , 0,23 mM KH_2PO_4 , 5

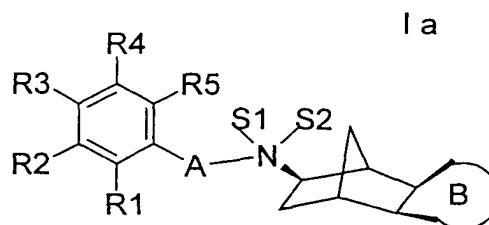
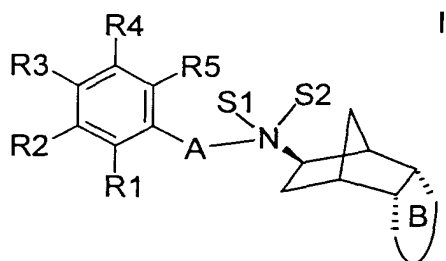
- 5 mM Hepes, 5 mM Glucose, mit 1 M NaOH wird ein pH von 7,0 eingestellt). Die zu testenden Substanzen wurden in dem Na^+ -haltigem Puffer angesetzt. Die Erholung des intrazellulären pHs bei jeder getesteten Konzentration einer Substanz wurde in Prozent der maximalen Erholung ausgedrückt. Aus den Prozentwerten der pH-Erholung wurde mittels des Programms SigmaPlot der IC_{50} -Wert der jeweiligen
- 10 Substanz für die einzelnen NHE-Subtypen berechnet.

NHE-Aktivität

Beispiel	Ratten-NHE3 IC_{50} [μM]
5	0,81
(+)-6	0,5
(-)-6	1
10	0,9
9	5
5	70
7	31

Patentansprüche:

1. Substituierte Norbornylamino-Derivate mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anelliertem Fünfring der Formel I a,



worin bedeuten:

10 A (C₁-C₄)- Alkylen;

S1 ein freies Elektronenpaar oder (C₁-C₄)- Alkyl;

S2 (C₁-C₄)- Alkyl oder H;

wobei, wenn S1 und S2 Alkyl bedeuten, X⁻ in der resultierenden Gruppierung [-N⁺(S1S2)- X⁻] einem physiologisch akzeptablem Anion oder Trifluoracetat entspricht;

15

B ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenstoff-Fünfring, der mit Oxo, Hydroxy, (C₁-C₄)- Alkoxy und (C₁-C₄)- Alkyl einfach oder mehrfach unabhängig voneinander substituiert sein kann;

und

R1, R2, R3, R4 und R5

unabhängig voneinander H, OH, F, Cl, Br, I, CN, NO₂, Amidino, -CO₂R(11), -CONR(11)R(12), -SO_rR(11), -SO_sNR(11)R(12), (C₁-C₄)- Alkyl, (C₁-C₄)- Alkoxy, (C₁-C₄)-Alkoxy(C₁-C₄)- alkyl, (C₁-C₄)-Alkoxy-(C₁-C₄)-alkyloxy, Hydroxy-(C₁-C₄)- alkyl, (C₃-C₇)- Cycloalkoxy oder Phenyloxy,

25

wobei Phenyl unsubstituiert ist oder substituiert mit bis zu drei Substituenten, die unabhängig voneinander sind, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus F, Cl, Br und Methoxy;

Amino, (C₁-C₄)- Alkylamino, Di-(C₁-C₄)- alkylamino, Amino-(C₁-C₄)- alkyl, Di-(C₁-C₄)- alkylamino-(C₁-C₄)- alkyl, (C₁-C₄)-Alkylamino-(C₁-C₄)- alkyl,

wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können;

R11 und R12

unabhängig voneinander H oder (C₁-C₄)- Alkyl,

5 wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können;

r 0, 1 oder 2;

s 1 oder 2;

oder

10 R1 und R2, R2 und R3, R3 und R4 oder R4 und R5

jeweils gemeinsam eine Gruppe -O-(CH₂)_n-O-;

n 1 oder 2;

und

die jeweils verbleibenden Reste R1, R2, R3, R4 oder R5

15 unabhängig voneinander H, OH, F, Cl, Br, I, CN, NO₂, Amidino, -CO₂R(11), -CONR(11)R(12), -SO_rR(11), -SO_sNR(11)R(12), (C₁-C₄)-Alkyl, (C₁-C₄)-Alkoxy, (C₁-C₄)-Alkoxy-(C₁-C₄)-alkyl, (C₃-C₇)- Cycloalkoxy, Hydroxy-(C₁-C₄)-alkyl, Amino, (C₁-C₄)- Alkylamino, Di-(C₁-C₄)- alkylamino, Amino-(C₁-C₄)- alkyl, Di-(C₁-C₄)-alkylamino-(C₁-C₄)- alkyl, (C₁-C₄)-Alkylamino-(C₁-C₄)- alkyl,

20 wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können;

R11 und R12

unabhängig voneinander H oder (C₁-C₄)- Alkyl,

wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder teilweise durch Fluor substituiert sein können;

r 0, 1 oder 2;

s 1 oder 2;

wobei Benzyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin ausgenommen ist, sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

30

2. Verbindungen der Formel I oder I a nach Anspruch 1 mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anelliertem Fünfring der Formel I a, in der bedeuten:

- A (C₁-C₂)- Alkylen
 S1 freies Elektronenpaar oder Methyl,
 S2 H;
 B ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenstoff-Fünfring;
- 5 R1, R2, R3, R4 und R5
 unabhängig voneinander H, Amino, Hydroxymethyl, OH, Methoxy, F, Cl, Br
 oder Iod;
 oder
 R2 und R3
- 10 gemeinsam -O-CH₂-O-;
 und
 die verbleibenden Reste R1, R4 und R5
 unabhängig voneinander H, OH, F, Cl, Br, I, CN, NO₂, (C₁-C₂)- Alkoxy,
 Amino, (C₁-C₂)-Alkylamino oder Di-(C₁-C₂)-alkylamino,
 15 wobei die Wasserstoffatome in den Alkylresten ganz oder teilweise
 durch Fluor substituiert sein können;
 sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

3. Verbindungen der Formel I oder I a nach Anspruch 1 und 2 mit exo-konfiguriertem
 20 Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem
 Stickstoff und exo-anelliertem Fünfring der Formel I a, in der bedeuten:

- A (C₁-C₂)-Alkylen;
 S1 freies Elektronenpaar;
 S2 H;
 25 B ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenstoff-Fünfring;
 R1, R3 und R5
 Wasserstoff;
 und R2 und R4
 unabhängig voneinander H, Methoxy, F oder Cl;
 30 oder
 R2 und R3
 gemeinsam -O-CH₂-O-;
 und
 R1, R4 und R5

Wasserstoff;

sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

4. Verbindungen der Formel I oder I a nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anelliertem Fünfring der Formel I a , dadurch gekennzeichnet, dass es sich um folgende Verbindungen handelt:

exo/endo-(3-Chlor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin;

exo/endo-Benzo[1,3]dioxol-5-ylmethyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(*rac*)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(+)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(-)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-[1-(3-Methoxy-phenyl)-ethyl]-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(3a,4,5,6,7,7a-Hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-(3-methoxy-benzyl)-amin,

exo/endo-(3,5-Difluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin und

exo/exo-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin

sowie deren pharmazeutisch akzeptable Salze.

5. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, mit exo-ständigem Amin und endo-anelliertem Ring, welche sind:

exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(3-Fluor-benzyl)-(3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-Benzo[1,3]dioxol-5-ylmethyl-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(*rac*)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

exo/endo-(+)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

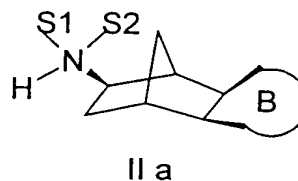
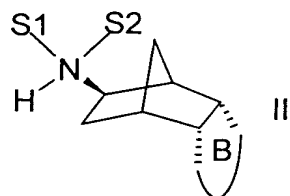
exo/endo-(-)-(3-Methoxy-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin und

exo/endo-3,5-Difluor-benzyl)-(octahydro-4,7-methano-inden-5-yl)-amin,

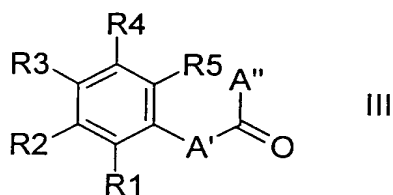
sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

6. Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der Formel I oder I a nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man

a) eine Verbindung der Formel II oder II a



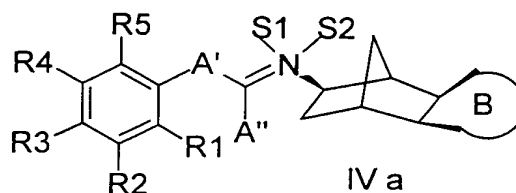
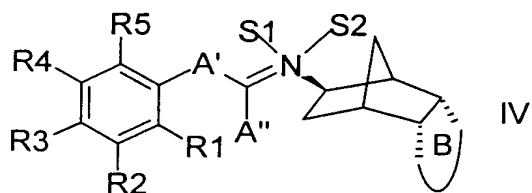
mit einer Verbindung der Formel III in Gegenwart geeigneter Reduktionsmittel und möglicherweise auch Lewis-Säuren direkt zu Verbindungen der Formel I oder I a umsetzt,



worin S1, S2, B, R1, R2, R3, R4 und R5 die oben angegebene Bedeutung besitzen, während unabhängig voneinander A' einer Bindung oder (C₁-C₃)-Alkyl und A'' H oder (C₁-C₃)-Alkyl entspricht und A' und A'' zusammen mit dem Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe sowie Kohlenstoffatome repräsentieren wie das oben beschriebene A;

oder

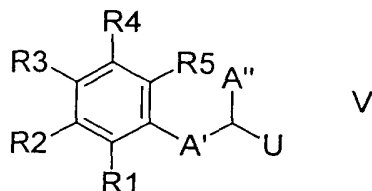
b) das aus Verbindungen der Formeln II oder II a und III gebildete Intermediat der Formel IV oder IV a



isoliert und dann mit geeigneten Reduktionsmitteln in die Verbindungen der Formel I oder I a überführt,

oder

c) eine Verbindung der Formel II oder II a mit einem Alkylierungsmittel der Formel V,



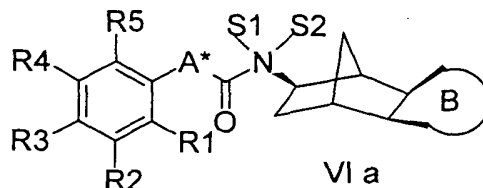
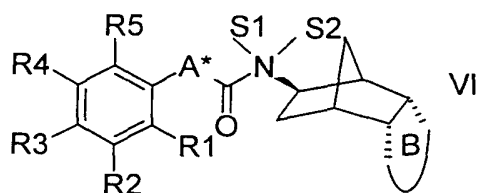
5

in der U für eine nukleophil substituierbare Gruppe steht - wie z. B. Halogen, Rest eines reaktionsfähigen Esters, quartäre Ammonium Salze - und die anderen Reste wie oben beschrieben definiert sind, aber hier dem Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe das Kohlenstoffatom, an das U gebunden ist, entspricht,

umsetzt,

oder

d) Carbonsäureamide der Formel VI oder VI a,



15

worin A* einer Bindung oder (C₁-C₃)-Alkyl entspricht und die anderen Reste, wie oben beschrieben, definiert sind,

zu den entsprechenden Aminen reduziert;

oder

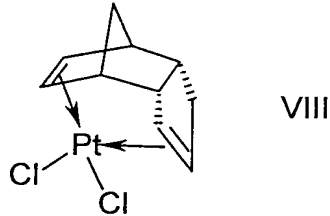
20 e) Verbindungen der Formel I oder I a, in denen S1 einem freien Elektronenpaar und S2 Wasserstoff entspricht, mit Alkylierungsmitteln der Formel VII,



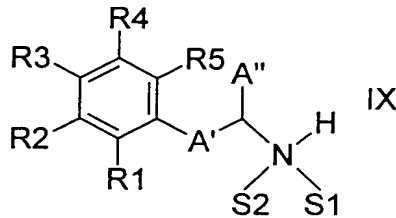
worin S* (C₁-C₄)- Alkyl bedeutet und U oben beschriebene Bedeutung besitzt, mono- oder dialkyliert, so daß aus dieser Umsetzung tertiäre Amine oder quartäre Ammoniumsalze hervorgehen;

oder

- 5 f) einen Dicyclopentadienylplatin-Komplex der Formel VIII,



mit Aminen vom Typ der Formel IX



worin S1, S2, R1, R2, R3, R4 und R5 die oben angegebene Bedeutung besitzen, während unabhängig voneinander A' einer Bindung oder (C₁-C₃)-Alkyl und A'' H oder (C₁-C₃)-Alkyl entspricht und A' und A'' zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das das Stickstoffatom gebunden ist, so viele Kohlenstoffatome repräsentieren wie das oben beschriebene A,

zu Verbindungen der Formel I umgesetzt und anschließend das gebildete Zwischenprodukt reduziert;

und dass man gegebenenfalls in das pharmazeutisch verträgliche Salz überführt.

7. Verwendung einer Verbindung I oder I a nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe von Störungen des Atemantriebs.

8. Verwendung einer Verbindung I oder I a nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe der Apnoe.

9. Verwendung einer Verbindung I oder I a nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder zur Prophylaxe von akuten und chronischen Nierenerkrankungen, besonders des akuten Nierenversagens und des chronischen Nierenversagens.
- 5
10. Verwendung einer Verbindung I oder I a nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe von Störungen der Darmfunktion.
11. Verwendung einer Verbindung I oder I a nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe von Störungen der Gallenfunktion.
- 10
12. Verwendung einer Verbindung I oder I a nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe von ischämischen Zuständen des peripheren und zentralen Nervensystems und des Schlaganfalls.
- 15
13. Verwendung einer Verbindung I oder I a nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe von ischämischen Zuständen peripherer Organe und Gliedmaßen.
- 20
14. Verwendung einer Verbindung I oder I a nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Schockzuständen.
15. Verwendung einer Verbindung I oder I a nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zu Einsatz bei chirurgischen Operationen und Organtransplantationen.
- 25
16. Verwendung einer Verbindung I oder I a nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Konservierung und Lagerung von Transplantaten für chirurgische Maßnahmen.
- 30
17. Verwendung einer Verbindung I oder I a nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Krankheiten, bei denen die Zellproliferation eine primäre oder sekundäre Ursache darstellt.

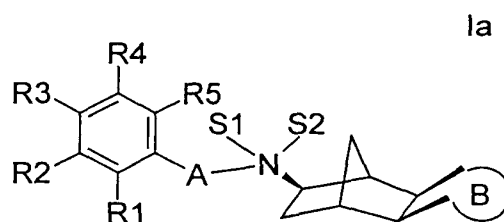
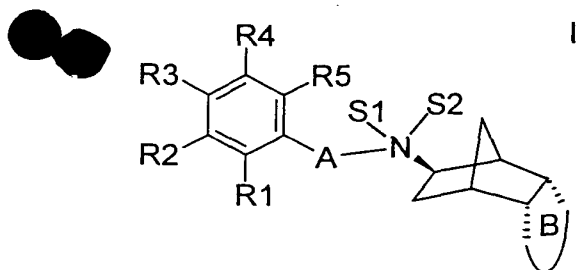
18. Verwendung einer Verbindung I oder I a nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe von Störungen des Fettstoffwechsels.

- 5 19. Heilmittel, enthaltend eine wirksame Menge einer Verbindung I oder I a nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5.

Zusammenfassung

- 5 Substituierte Norbornylamino- Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung, ihre Verwendung als Medikament oder Diagnostikum sowie sie enthaltendes Medikament

- 10 Substituierte Norbornylamino-Derivate mit exo-konfiguriertem Stickstoff und endo-anelliertem Fünfring der Formel I und mit exo-konfiguriertem Stickstoff und exo-anelliertem Fünfring der Formel I a,



- 15 worin R1, R2, R3, R4, R5, A, B, S1 und S2 die in den Ansprüchen gegebenen Bedeutungen haben, sind hervorragend geeignet als Antihypertensiva, zur Verringerung oder Verhinderung ischämisch induzierter Schäden, als Arzneimittel für operative Eingriffe zur Behandlung von Ischämien des Nervensystems, des Schlaganfalls und des Hirnödems, des Schocks, des gestörten Atemantriebs, als Abführmittel, zur Vorbeugung gegen Gallenstein-Bildung, als Antiatherosklerotika, Mittel gegen diabetische Spätkomplikationen, Krebserkrankungen, fibrotische Erkrankungen, endotheliale Dysfunktion, Organhypertrophien und -hyperplasien. Sie sind Inhibitoren des zellulären Natrium-Protonen-Antiporters. Sie beeinflussen die Serumlipoproteine und können daher zur Prophylaxe und zur Regression von
- 25 atherosklerotischen Veränderungen herangezogen werden.